



**Titre:** Laser à balayage spectral double-bande pour l'imagerie  
Title: biomédicale multimodale

**Auteur:** Nadir Goulamhoussen  
Author:

**Date:** 2013

**Type:** Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

**Référence:** Goulamhoussen, N. (2013). Laser à balayage spectral double-bande pour  
Citation: l'imagerie biomédicale multimodale [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de  
Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/1158/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**  
Open Access document in PolyPublie

**URL de PolyPublie:** <https://publications.polymtl.ca/1158/>  
PolyPublie URL:

**Directeurs de  
recherche:** Caroline Boudoux  
Advisors:

**Programme:** Génie biomédical  
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

LASER À BALAYAGE SPECTRAL DOUBLE-BANDE POUR L'IMAGERIE  
BIOMÉDICALE MULTIMODALE

NADIR GOULAMHOUSSEN  
INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL  
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLOME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES  
(GÉNIE BIOMÉDICAL)  
AOÛT 2013

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

LASER À BALAYAGE SPECTRAL DOUBLE-BANDE POUR L'IMAGERIE  
BIOMÉDICALE MULTIMODALE

présenté par : GOULAMHOUSSEN Nadir

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. LEBLOND Frédéric, Ph.D., président

Mme BOUDOUX Caroline, Ph.D., membre et directrice de recherche

M. GODBOUT Nicolas, Ph.D., membre

## REMERCIEMENTS

Mon projet de maîtrise ne se serait pas concrétisé sans l'apport de plusieurs personnes m'ayant épaulé. Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de recherche, Professeure Caroline Boudoux, qui a guidé mon parcours non seulement durant ma maîtrise, mais également à mes tous premiers balbutiements avec la recherche au baccalauréat. Son aide fut précieuse lorsque je bloquais sur un problème scientifique. Son enthousiasme et sa passion furent contagieux lorsque j'avais l'impression que le monde entier m'empêchait de terminer mon projet à temps. Outre ma carrière scientifique, elle a également permis de démarrer ma carrière de mannequin, ce pour quoi je lui serai toujours reconnaissant !

Ensuite, je ne peux passer sous le silence l'aide apportée par tous les membres du Laboratoire d'Optique Diagnostique et d'Imagerie. En premier lieu, je tiens à remercier Dr. Mathias Strupler, pour m'avoir appris les rudiments de l'alignement optique. À partir de maintenant, je visse mes pièces optiques, c'est juré ! Étienne et Romain, je n'aurais pas passé au travers ma maîtrise si vous n'aviez pas passé des heures à déboguer les différents logiciels d'acquisition. Merci aussi à Julie pour ses explications sur le fonctionnement des coupleurs en DCF et le comportement de l'OCT en illumination multimodale. Je dois aussi des remerciements à Fouzi et Kathy, qui m'ont expliqué le fonctionnement d'un OCT et fait mesurer des heures durant la longueur de leurs fibres. Merci à Nazim, qui m'a aidé à reconstruire encore et encore la source jusqu'à ce qu'elle soit parfaite. Merci à Chloé et Émilie qui m'ont prêté leur doigt. Chloé, le signal CARS sera bientôt bien réel et non seulement une hallucination ! Merci également à Amber que je n'ai cessé de déranger pour savoir si le coucou était dans son nid. Finalement, merci à tous les stagiaires et autres membres passés du LODI pour les merveilleux moments passés en votre compagnie.

Je ne peux également passer sous le silence tous les encouragements offerts par ma famille. Papa, Maman et Farah, merci de m'avoir appris à persévérer dans la vie. Si un jour, je trouve le remède contre le cancer (on peut toujours rêver...), il y aura un peu de vous là-dedans !

Mention spéciale à ceux qui m'ont permis de décrocher durant les pauses-tarots et dîners (Sébastien, Victor, Chloé, Maxime, Jo, Philippe et Gabriel) et avec qui j'ai passé 6 années géniales. Ces moments seront à jamais gravés dans ma mémoire.

En terminant, je tiens à remercier les organismes subventionnaires FQRNT et CRSNG pour leur soutien financier tout au long de ma maîtrise, ce qui a permis de mettre tous mes efforts vers la réussite de mon projet.

## RÉSUMÉ

Une source laser balayant simultanément deux bandes spectrales centrées à 780 nm et 1 300 nm a été conçue pour une utilisation en imagerie multimodale. La source repose sur deux milieux de gain : un amplificateur optique à semiconducteur fibré (*Semiconductor Optical Amplifier* ou SOA) centré à 1 300 nm et une diode laser en espace libre centrée à 780 nm. Afin d'obtenir la simultanéité du balayage spectral dans les deux bandes, les filtres spectraux pour chacune des bandes utilisent différentes facettes d'un même miroir polygonal en rotation. Pour chaque bande, un télescope dirige les longueurs d'onde séparées par un réseau de diffraction vers le miroir polygonal. Le miroir polygonal réfléchit alors l'étroite bande de longueurs d'onde normale à sa surface. Cette étroite bande spectrale est ensuite amplifiée lors du retour dans le milieu amplificateur. La rotation du polygone permet le balayage en longueur d'onde à une vitesse pouvant aller de 6 000 à 30 000 spectres par seconde, ou lignes-A par seconde en tomographie par cohérence optique (*Optical Coherence Tomography* ou OCT). La source à 780 nm a une bande passante de 37 nm, une puissance de sortie de 54 mW et une longueur de cohérence de 11 mm. La source à 1 300 nm a quant à elle une bande passante de 75 nm, une puissance de 17 mW et une longueur de cohérence de 7,2 mm.

Afin de tester le potentiel de la source en imagerie biomédicale, trois systèmes multimodaux ont été conçus. Premièrement, un système OCT deux couleurs qui permet l'imagerie tridimensionnelle de tissus biologiques a été réalisé. Un nouveau design incorporant une détection balancée dans les deux bandes spectrales est proposé et testé. Deuxièmement, un système combinant l'OCT et la microscopie confocale encodée spectralement (*Spectrally Encoded Confocal Microscopy* ou SECM) a été construit. Dans ce système, le système SECM permet d'obtenir des images de la surface de l'échantillon avec une résolution subcellulaire simultanément à l'image 3D obtenue en OCT. Les images obtenues pour ces deux systèmes exploitent les deux bandes spectrales de la source à balayage : les courtes longueurs d'onde sont employées pour obtenir une résolution accrue, tandis que les longueurs d'onde élevées sont employées pour obtenir une profondeur de pénétration supérieure. Troisièmement, un système combinant l'OCT à la détection de fluorescence a été conçu, ajoutant ainsi l'imagerie fonctionnelle aux images structurelles obtenues par l'OCT. Une fois ces trois systèmes fonctionnels en version laboratoire, une des voies d'avenir de mon projet serait de les adapter pour permettre l'imagerie multimodale en endoscopie. La fabrication de composants fibrés qui combinent l'illumination des deux modalités tout en démultiplexant leur détection serait une avenue possible, tout comme le développement de l'optomécanique adaptée à l'imagerie in vivo.

## ABSTRACT

A novel swept laser providing simultaneous dual-band (780 nm and 1 300 nm) wavelength scanning has been designed for use in multimodal imaging systems. The swept laser is based on two gain media : a fibered semiconductor optical amplifier (SOA) centered at 1 300 nm and a free-space laser diode centered at 780 nm. Simultaneous wavelength tuning for both bands is obtained by separate wavelength filters set up around the same rotating polygonal mirror. For each band, a telescope in an infinite conjugate setup converges the wavelengths dispersed by a grating on the polygon. The polygon reflects back a narrow band of wavelengths for amplification in the gain medium. Rotating the polygon enables wavelength tuning and imaging at a rate of 6 000 to 30 000 spectral lines/s, or A-lines/s in Optical Coherence Tomography (OCT). The 780 nm source has a bandwidth of 37 nm, a fibered output power of 54 mW and a coherence length of 11 mm. The 1 300 nm source has a bandwidth of 75 nm, a fibered output power of 17 mW and a coherence length of 7.2 mm.

Three multimodal systems were designed to test the potential of the swept laser in biomedical imaging. A two color OCT which allows three-dimensional in depth imaging of biological tissues with good morphological contrast was first designed, including a novel arrangement for balanced detection in both bands. A simultaneous OCT and SECM instrument was also built in which spectrally encoded confocal microscopy (SECM) provides en face images of subcellular features with high resolution on top of the 3D high penetration image obtained by OCT. Finally, a system combining OCT with fluorescence was designed, thus adding functional imaging to structural OCT images. There are many prospective paths for these three modalities, first among them the adaptation of the systems such that they may be used with imaging probes. One potential solution would be the development of novel fiber components to combine the illumination of theses modalities while demultiplexing their detection, and as would be the development of new optomechanics to enable 3D real-time in vivo imaging.

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS . . . . .	iii
RÉSUMÉ . . . . .	iv
ABSTRACT . . . . .	v
TABLE DES MATIERES . . . . .	vi
LISTE DES TABLEAUX . . . . .	viii
LISTE DES FIGURES . . . . .	ix
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS . . . . .	xi
CHAPITRE 1 INTRODUCTION . . . . .	1
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE . . . . .	4
2.1 La tomographie par cohérence optique . . . . .	4
2.1.1 L'OCT dans le domaine temporel . . . . .	4
2.1.2 L'OCT dans le domaine de Fourier . . . . .	6
2.1.3 Dérivation du signal obtenu en SS-OCT . . . . .	8
2.1.4 Performance d'un système OCT . . . . .	10
2.2 Évolution des sources laser pour l'OCT . . . . .	12
2.3 Domaines d'application de l'OCT . . . . .	13
2.4 Imagerie multimodale . . . . .	14
2.4.1 OCT à plusieurs bandes spectrales . . . . .	15
2.4.2 Systèmes multimodaux contenant un OCT . . . . .	15
CHAPITRE 3 LASER À BALAYAGE SPECTRAL DOUBLE-BANDE . . . . .	17
3.1 Choix des milieux de gain . . . . .	17
3.1.1 Choix du milieu de gain à 1300 nm . . . . .	18
3.1.2 Choix du milieu de gain à 780 nm . . . . .	19
3.2 Assemblage d'une source à balayage spectral . . . . .	20
3.2.1 Assemblage basé sur un milieu de gain fibré . . . . .	20
3.2.2 Assemblage basé sur un milieu de gain en espace libre . . . . .	22
3.3 Source à balayage spectral double-bande simultanée . . . . .	24
3.3.1 Assemblage des filtres spectraux . . . . .	25

3.3.2	Assemblage du déclencheur . . . . .	30
3.4	Caractérisation de la source . . . . .	31
CHAPITRE 4	OCT DEUX COULEURS . . . . .	39
4.1	Description du système d'imagerie OCT deux couleurs . . . . .	39
4.2	Caractérisation du système OCT deux couleurs . . . . .	41
4.2.1	Mesure des résolutions axiale et latérale . . . . .	41
4.2.2	Caractérisation des aberrations chromatiques . . . . .	43
4.2.3	Caractérisation des pertes de puissance dans l'imageur . . . . .	45
4.2.4	Caractérisation du multiplexeur/démultiplexeur . . . . .	46
4.2.5	Effet de l'utilisation de fibres multimodales à 780 nm . . . . .	47
4.2.6	Effet de l'absence de détection balancée à 780 nm . . . . .	49
4.2.7	Prise d'images d'échantillons biologiques . . . . .	51
4.3	Système OCT deux couleurs avec détection balancée à 780 nm . . . . .	52
4.3.1	Images d'échantillons biologiques en détection balancée . . . . .	54
4.3.2	Améliorations futures du système . . . . .	55
CHAPITRE 5	SYSTÈMES D'IMAGERIE EN DÉVELOPPEMENT . . . . .	58
5.1	Système d'imagerie combinant OCT et SECM . . . . .	58
5.1.1	Fonctionnement d'un microscope confocal . . . . .	58
5.1.2	Description du système SECM/OCT . . . . .	60
5.1.3	Caractérisation du système SECM/OCT . . . . .	61
5.1.4	Utilité du système SECM/OCT en imagerie . . . . .	62
5.2	Système d'imagerie combinant l'OCT à la fluorescence . . . . .	64
5.2.1	Utilité en imagerie médicale . . . . .	64
5.2.2	Description du système combiné OCT/Fluo . . . . .	64
5.2.3	Caractérisation du système OCT/Fluo . . . . .	66
CHAPITRE 6	CONCLUSION . . . . .	69
6.1	Améliorations futures . . . . .	69
6.2	Perspective d'avenir : l'imagerie CARS . . . . .	71
6.2.1	Survol théorique d'un système CARS . . . . .	71
6.2.2	Sources à balayage spectral pour l'imagerie CARS du phosphate . . . . .	71
REFERENCES	. . . . .	74



## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 3.1	Spécifications du milieu de gain à 1300 nm . . . . .	19
TABLEAU 3.2	Spécifications du milieu de gain à 780 nm . . . . .	20
TABLEAU 3.3	Caractéristiques des filtres spectraux employés . . . . .	30
TABLEAU 3.4	Réponse spectrale des sources . . . . .	34
TABLEAU 3.5	Largeurs instantanées ( $\delta\lambda$ ), nombre de points résolubles ( $N$ ) et longueur de cohérence ( $l_c$ ) de la source en fonction de la vitesse de rotation du polygone (en facettes/s) . . . . .	37
TABLEAU 4.1	Résolutions axiale et latérale obtenues avec le système OCT . . . . .	42
TABLEAU 5.1	Caractérisation du système d'imagerie SECM/OCT . . . . .	62

## LISTE DES FIGURES

FIGURE 2.1	Montage d'un système OCT fibré dans le domaine temporel . . . . .	5
FIGURE 2.2	Montage d'un système OCT basé sur une source à balayage spectral .	7
FIGURE 3.1	Dispersion de la fibre SMF-28 en fonction de la longueur d'onde . . .	18
FIGURE 3.2	Absorption de l'eau en fonction de la longueur d'onde . . . . .	19
FIGURE 3.3	Schéma d'une source laser accordable spectralement fibrée . . . . .	21
FIGURE 3.4	Schéma d'une source laser accordable spectralement fibrée sans circu- lateurs de Faraday . . . . .	22
FIGURE 3.5	Schéma d'une source laser accordable spectralement basée sur un milieu de gain en espace libre . . . . .	23
FIGURE 3.6	Schéma d'une source laser à balayage spectral double-bande simultanée	24
FIGURE 3.7	Efficacité du réseau de diffraction à 1300 nm en fonction de la polarisation	25
FIGURE 3.8	Définition des angles d'incidence et de diffraction selon la loi des réseaux	26
FIGURE 3.9	Schéma illustrant le fonctionnement de la diode à 780 nm . . . . .	26
FIGURE 3.10	Fonctionnement du télescope dans un filtre spectral . . . . .	27
FIGURE 3.11	Position du polygone permettant l'amplification simultanée de deux longueurs d'onde . . . . .	29
FIGURE 3.12	Schéma d'une source laser accordable munie d'un déclencheur d'acqui- sition . . . . .	31
FIGURE 3.13	Puissance de sortie des sources en fonction du courant d'injection . .	32
FIGURE 3.14	Densité spectrale de puissance des sources . . . . .	33
FIGURE 3.15	Puissance de sortie des sources en fonction de la vitesse de rotation du polygone . . . . .	34
FIGURE 3.16	Puissance de sortie en fonction de la rotation du polygone . . . . .	36
FIGURE 3.17	Variation de la puissance de sortie sur plusieurs tours du polygone . .	36
FIGURE 4.1	Schéma d'un système OCT deux couleurs à 780 nm et 1300 nm . . .	40
FIGURE 4.2	Lignes-A obtenues de l'imagerie d'une lamelle de verre avec le système OCT deux couleurs . . . . .	41
FIGURE 4.3	Images de la reconstruction de la surface d'une cible de résolution . .	43
FIGURE 4.4	Décalage du point focal en fonction de la longueur d'onde pour les lentilles utilisées . . . . .	44
FIGURE 4.5	Décalage expérimental du point focal en fonction de la longueur d'onde dans le bras d'échantillon du système . . . . .	44
FIGURE 4.6	Endroits dans le montage où fut mesurée la puissance du signal . . .	45
FIGURE 4.7	Transmission du démultiplexeur à 780 nm et 1300 nm . . . . .	47

FIGURE 4.8	Comparaison des images OCT sans et avec enroulement de la fibre multimodale . . . . .	49
FIGURE 4.9	Signal OCT obtenu d'une lame de verre dans le système à 780 nm . .	50
FIGURE 4.10	Image d'échantillons biologiques avec le système OCT deux couleurs sans détection balancée . . . . .	52
FIGURE 4.11	Schéma d'un OCT deux couleurs à 780 nm et 1300 nm avec détection balancée . . . . .	53
FIGURE 4.12	Images d'un ruban adhésif replié sur lui-même avec le système OCT deux couleurs . . . . .	54
FIGURE 4.13	Images d'un doigt à l'aide du système OCT deux couleurs en détection balancée à 780 nm et 1300 nm . . . . .	55
FIGURE 4.14	Images d'un doigt à l'aide du système OCT deux couleurs en détection balancée à 780 nm et 1300 nm . . . . .	56
FIGURE 5.1	Schéma expliquant le fonctionnement d'un microscope confocal. . . .	59
FIGURE 5.2	Fonctionnement d'un microscope confocal encodé spectralement . . .	60
FIGURE 5.3	Schéma de principe du système combiné SECM/OCT . . . . .	61
FIGURE 5.4	Images d'une cible de résolution à l'aide du système SECM/OCT . .	62
FIGURE 5.5	Images SECM d'échantillons frais de thyroïde et de parathyroïde . . .	63
FIGURE 5.6	Images OCT et SECM ex vivo d'un tissu thyroïdien avec le système SECM/OCT . . . . .	63
FIGURE 5.7	Images SECM d'échantillons frais de parathyroïde et de ganglions lymphatiques . . . . .	64
FIGURE 5.8	Fonctionnement d'un DCFC . . . . .	65
FIGURE 5.9	Schéma d'un OCT deux couleurs couplé à la détection de fluorescence	66
FIGURE 5.10	Spectres d'excitation et d'émission de l'Alexa Fluor 790 . . . . .	67
FIGURE 5.11	Images OCT et spectre d'émission en fluorescence de solutions fluorescentes . . . . .	68
FIGURE 6.1	Schéma résumant les différentes étapes du projet . . . . .	70
FIGURE 6.2	Diagramme de Jablonski de la diffusion Raman anti-Stokes cohérente	72

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

BOA	Booster Optical Amplifier
CARS	Coherent Anti-Stokes Raman Scattering
DCF	Dual-clad fiber
DCF	Dual-clad fiber coupler
FD-OCT	Fourier-Domain OCT
FSR	Free spectral range
GRIN	Gradient Index
LODI	Laboratoire d'Optique Diagnostique et d'Imagerie
LSCM	Laser scanning confocal microscopy
MOPA	Master Oscillator Power Amplifier
PL	Programmable Laser
OCT	Optical Coherence Tomography
SD-OCT	Spectral-Domain Optical Coherence Tomography
SECM	Spectrally Encoded Confocal Microscopy
SOA	Semiconductor Optical Amplifier
SS-OCT	Swept-Source OCT
TD-OCT	Time-Domain OCT

## CHAPITRE 1

### INTRODUCTION

L'imagerie biomédicale est un domaine de recherche et d'application qui vise l'exploitation des radiations (ionisantes ou non) pour améliorer notre compréhension du corps humain à des fins scientifiques ou diagnostiques. Des instruments d'imagerie médicale peuvent entre autres être basés sur l'interaction entre les rayons X et le corps (radiologie, tomodensitométrie), sur l'alignement de noyaux atomiques sous l'effet d'un champ magnétique (IRM), sur l'émission de positons suite à l'injection d'un produit radioactif (PET) ou encore sur l'écho réfléchi par des ultrasons (échographie). Récemment, l'imagerie biomédicale basée sur la lumière, un domaine appelé la biophotonique, a pris son envol grâce notamment à la conception de sources lumineuses et de systèmes de détection sophistiqués.

L'utilisation de la lumière en imagerie médicale est très variée, car l'interaction entre la lumière et le corps humain change grandement en fonction des caractéristiques de la source employée. Ainsi, on peut utiliser la lumière à des fins thérapeutiques. Par exemple, on utilise différents lasers selon la couleur de peau du patient durant les procédures de détatouage. On emploie également des lasers pour remodeler la cornée lors des chirurgies réfractives de l'œil. Outre son utilisation en thérapie, la lumière est également utilisée pour le diagnostic. Par exemple, certaines molécules sont auto-fluorescentes à certaines longueurs d'onde mais pas à d'autres, ce qui permet de détecter leur présence sans les voir directement. Ainsi, en imageant par exemple l'injection de fluorophores actifs dans le proche infrarouge à l'intérieur d'un tissu, il est possible d'imager l'expression de certains gènes.[1] Cette information obtenue par la fluorescence est communément appelée information fonctionnelle, et apporte une valeur ajoutée lors de la pose de diagnostic, contrairement aux images morphologiques standards qui ne renseignent que sur l'anatomie.

La conjugaison de deux ou plusieurs modalités dans un même système d'imagerie est très utile pour combiner l'information fonctionnelle et celle morphologique obtenues de chacune d'elles prises individuellement. L'utilisation de systèmes multimodaux s'avère également efficace pour mieux situer l'échantillon à étudier dans son environnement immédiat. Par exemple, un système endoscopique trimodal (spectroscopie Raman, fluorescence et réflectance en lumière blanche) a été conçu afin de détecter les tissus potentiellement cancéreux dans l'œsophage.[2] Dans ce système, l'image de réflectance en lumière blanche possède un large champ de vue et permet de visualiser l'ensemble de l'œsophage, tandis que la spectro-

scopie Raman et la fluorescence permettent de cibler précisément là où une biopsie devrait être effectuée. Cet exemple tiré de la littérature permet de mettre en valeur cet atout des systèmes multimodaux : en combinant une modalité d'imagerie à grand champ de vue mais à faible résolution et une modalité d'imagerie à faible champ de vue mais à résolution élevée, il est possible de situer le tissu à analyser dans un échantillon large avant de l'imager à haute résolution.

Le développement de systèmes d'imagerie hybride présente plusieurs défis d'ingénierie. Par exemple, la taille des instruments pour l'imagerie in vivo doit être réduite au maximum. Différentes pièces optiques doivent aussi être développées afin de combiner les trajets lumineux appartenant à différentes modalités. Les fibres à double gaine (*Dual-clad fiber* ou DCF) sont un exemple de ces pièces optiques adaptées pour l'endoscopie. Elles ont permis de combiner la tomographie par cohérence optique (*Optical Coherence Tomography* ou OCT) et la fluorescence dans un même endoscope fibré.[3] Dans ce système, deux sources de lumière ayant des bandes spectrales distinctes (une pour exciter la fluorescence et une autre pour obtenir le signal OCT) sont dirigées dans le cœur unimodal de la DCF. Lors de la détection, le signal OCT est obtenu à partir du cœur unimodal de la DCF, tandis que le signal provenant de la gaine interne est utilisé pour la détection de la fluorescence. Un autre exemple est la création de micro-lentilles pouvant être insérées dans les endoscopes. Ces micro-lentilles permettent notamment de combiner l'illumination en OCT et en microscopie confocale à l'échantillon, même si ces deux modalités nécessitent des ouvertures numériques drastiquement différentes afin d'obtenir un signal adéquat.[4]

Un autre défi lié à la réalisation de systèmes d'imagerie multimodale réside dans le choix des sources lumineuses pour répondre aux spécificités des différentes modalités ainsi qu'aux tissus sondés. Lorsqu'on utilise une seule modalité comme l'OCT, une meilleure résolution est obtenue avec des sources incohérentes centrées sur des courtes longueurs d'onde. Toutefois, l'utilisation de longueurs d'onde élevées est plus appropriée s'il faut sonder l'échantillon en profondeur, notamment à cause de la diminution de la diffusion présente aux courtes longueurs d'onde dans les tissus. Ces considérations doivent être prises en compte lors du choix de la source lumineuse pour sonder un tissu donné avec une modalité spécifique.

Lorsque deux modalités doivent être combinées, le choix des sources lumineuses à utiliser devient évidemment plus difficile. Une première approche consiste en l'utilisation de deux sources distinctes, soit une pour chacune des modalités. Cela implique d'avoir à synchroniser l'acquisition pour obtenir des images simultanées avec les deux sources. Une seconde approche consiste en l'utilisation d'une seule source lumineuse pour les deux modalités. Toutefois, la qualité des images obtenues pour chacune des modalités dépendent des caractéristiques

(puissance, longueur d'onde centrale, largeur de bande, etc.) de la source employée. Ce faisant, la qualité d'image n'est pas nécessairement optimale pour les deux modalités en utilisant une seule source d'illumination. Une troisième approche serait de concevoir une source sur mesure adaptée à la fois à toutes les modalités d'imagerie du système multimodal, ce qui permettrait de diminuer sa taille tout en s'affranchissant des défauts inhérents aux deux premières approches.

L'objectif de ce projet est donc de concevoir une source sur mesure pour l'imagerie multimodale. En vue d'évaluer les applications potentielles, trois différents systèmes multimodaux ont été conçus. Tout d'abord, un système OCT deux couleurs (780 nm et 1300 nm) a été conçu et permettra à terme la prise de mesures quantitatives sur des échantillons biologiques dû à leur réponses différentes aux deux longueurs d'onde. Ensuite, un système d'imagerie multimodale combinant l'OCT à la microscopie confocale encodée spectralement a été conçu et permet d'obtenir à la fois la visualisation 3D d'un échantillon en OCT et la prise d'images de surface à haute résolution en microscopie confocale. Le système met en valeur un des avantages de l'utilisation d'une source double-bande, soit de pouvoir combiner une bonne résolution à faible longueur d'onde en microscopie confocale avec une grande profondeur de pénétration à longueur d'onde élevée en OCT. Finalement, un système combinant l'OCT et la fluorescence a été conçu et permet d'ajouter l'imagerie fonctionnelle issue de la fluorescence pour mieux situer certains tissus en imagerie *in vivo*.

Ce mémoire de maîtrise se divise en plusieurs sections. Tout d'abord, une revue de la littérature sur les systèmes d'imagerie multimodale utilisés dans le cadre de ma maîtrise sera effectuée au chapitre 2. Des systèmes combinant l'OCT, la microscopie confocale et la fluorescence seront ciblés, avec un accent sur le choix des sources lumineuses utilisées pour répondre aux spécifications des différentes modalités présentes dans les systèmes. Ensuite, une description de la source laser double-bande à balayage spectral simultané réalisée dans le cadre de mon projet sera présentée dans le chapitre 3. Le chapitre 4 présentera la conception et la caractérisation d'un système OCT deux couleurs basé sur la source. Le chapitre 5 portera sur deux autres systèmes d'imagerie multimodale basés sur la source présentement en développement, soit le système combinant l'OCT à la microscopie confocale et celui combinant l'OCT à la détection de fluorescence. Une brève conclusion avec une mention sur les perspectives d'avenir des sources laser accordables spectralement en imagerie non-linéaire termine le mémoire.

## CHAPITRE 2

### REVUE DE LITTÉRATURE

La tomographie par cohérence optique (*Optical Coherence Tomography* ou OCT) est une modalité en plein essor dans le domaine biomédical, car elle permet la prise d'images en temps réel d'un échantillon biologique de manière non-invasive, tout en combinant bonne profondeur de pénétration et haute résolution. Son utilisation a été décuplée avec l'apparition de sources laser rapidement accordables spectralement qui permettent l'imagerie en temps réel. Ce chapitre présentera donc les bases théoriques de la tomographie par cohérence optique par balayage laser. Une revue de l'état de l'art sur les systèmes d'imagerie multimodale utilisant l'OCT sera également réalisée, en mettant l'accent sur le choix des sources lumineuses pour chacun de ces systèmes.

#### 2.1 La tomographie par cohérence optique

L'OCT est une technique analogue à l'imagerie par ultrasons qui utilise la lumière au lieu d'ondes acoustiques pour sonder les échantillons biologiques. Elle permet la visualisation en profondeur par une méthode interférométrique à faible cohérence.

##### 2.1.1 L'OCT dans le domaine temporel

L'OCT dans le domaine temporel (*Time-Domain Optical Coherence Tomography* ou TD-OCT) est basée sur le principe de l'interféromètre de Michelson[5] tel qu'illustré à la figure 2.1.

Dans ce système, la lumière provenant d'une source large bande (ou faiblement cohérente) est divisée en deux chemins optiques à l'aide d'un coupleur (ou d'une lame séparatrice dans le cas d'un montage en espace libre). L'échantillon est placé dans un bras de l'interféromètre nommé bras d'échantillon, et un miroir mobile est placé dans l'autre bras nommé bras de référence. Le signal interférométrique est obtenu par recombinaison cohérente de la lumière. L'emploi d'une source à faible cohérence temporelle (à large bande spectrale) fait en sorte qu'il n'y ait de l'interférence entre les deux faisceaux que lorsque la différence de trajet optique des bras de l'interféromètre est inférieure à la longueur de cohérence de la source. Pour une position fixe du miroir de référence, un signal interférométrique sera obtenu si



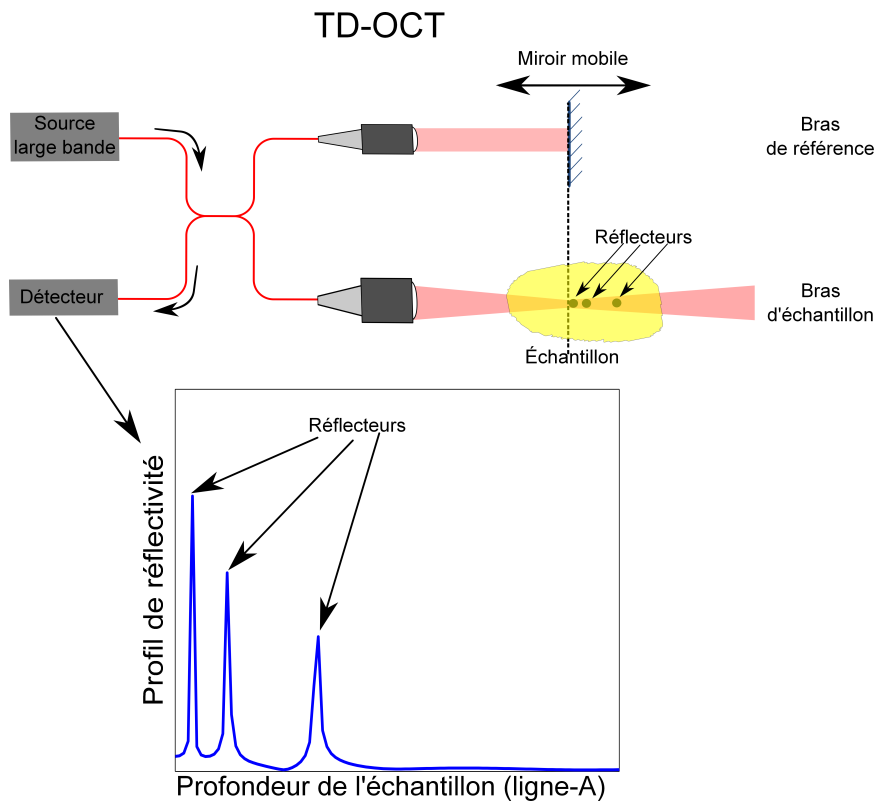


FIGURE 2.1 Montage d'un système OCT fibré dans le domaine temporel pour lequel le balayage du miroir dans le bras de référence permet l'imagerie en profondeur d'un échantillon. Le profil de réflectivité présenté est celui obtenu suite au traitement du signal capté par le détecteur. Un filtre passe-haut est d'abord employé pour éliminer la composante continue du signal. Un redresseur est ensuite utilisé pour ne garder la composante positive du signal. Finalement, un filtre passe-bas élimine la porteuse à haute fréquence du signal. Le profil de réflectivité présenté ne montre donc que l'enveloppe du signal interférométrique pour chaque réflecteur. La largeur à mi-hauteur de cette enveloppe correspond à la longueur de cohérence de la source utilisée.

un réflecteur est situé à la même distance que celle du miroir (plus ou moins la longueur de cohérence du laser). En balayant le miroir de référence dans l'axe correspondant à la profondeur de l'échantillon, on obtient le profil de réflectance de cette ligne appelée ligne-A. La résolution axiale de l'image est proportionnelle à la longueur de cohérence de la source utilisée. Une image en trois dimensions peut être obtenue en balayant mécaniquement le faisceau sur l'échantillon dans les axes orthogonaux à la ligne-A. Pour ce faire, on peut soit utiliser des miroirs galvanométriques, soit déplacer directement l'échantillon à l'aide de platines de translation motorisées.

Puisqu'on cherche en imagerie biomédicale à imager le plus grand volume possible dans un court laps de temps, différentes améliorations ont été apportées au système TD-OCT développé par Huang en 1991. Ce système permettait d'acquérir 0,8 lignes-A par seconde. Le développement de l'OCT dans le domaine temporel s'est longtemps buté à un faible rapport signal sur bruit et à des longs temps d'acquisition dû aux mouvements mécaniques du miroir du bras de référence. Les images obtenues par TD-OCT sont donc sensibles aux mouvements corporels involontaires comme la respiration, les battements cardiaques et les clignements de l'œil.

Plusieurs techniques de balayage furent développées pour accélérer l'acquisition. Ainsi, après le simple moteur utilisé par Huang en 1991 furent utilisés des montages avec un cube,[6] ce qui a permis d'augmenter la vitesse d'acquisition à 100 lignes-A par seconde. Les lignes à délai basées sur un miroir en rotation permirent ensuite d'atteindre une vitesse d'acquisition de 2000 lignes-A par seconde.[7]

### 2.1.2 L'OCT dans le domaine de Fourier

Malgré les avancées apportées aux TD-OCT, ce fut l'arrivée des systèmes OCT dans le domaine de Fourier (*Fourier-Domain OCT* ou FD-OCT) qui permit la prise d'images en temps réel en s'affranchissant du mouvement mécanique du miroir de référence et en augmentant le rapport signal sur bruit. Deux types de systèmes FD-OCT furent développés. Dans les deux cas, le miroir de référence reste fixe.

Un premier type d'OCT dans le domaine de Fourier est appelé OCT dans le domaine de spectral (*Spectral-Domain OCT* ou SD-OCT) et a une détection basée sur un spectromètre. Le signal reçu est décomposé sur une barrette de détecteurs encodant chacun l'information obtenue par une longueur d'onde différente. L'utilisation d'un système SD-OCT fut décrite pour la première fois pour l'imagerie des couches supérieures de la peau en 1998.[8] Sa vitesse d'acquisition de 16 000 à 30 000 lignes-A par seconde est plus élevée que celle des systèmes TD-OCT. [9] Toutefois, les spectromètres utilisés en SD-OCT ont une résolution spectrale limitée, ce qui cause une perte de sensibilité à plus de 1 mm en profondeur d'un échantillon biologique.[10]

Un deuxième type d'OCT dans le domaine de Fourier est appelé OCT par balayage laser (*Swept-Source OCT* ou SS-OCT). La détection est ici effectuée à l'aide d'un détecteur à point unique qui encode l'information interférométrique pour chaque longueur d'onde dans le temps. Pour ce faire, la source utilisée est une source à balayage spectral plutôt qu'une

source large bande (voir figure 2.2). Les premières images SS-OCT furent obtenues en utilisant un réseau de diffraction et un miroir oscillant pour amplifier une longueur d'onde différente dans la cavité laser à chaque instant.[11] La vitesse d'acquisition des SS-OCT dépend grandement du schéma de la source accordable (voir section 2.2) et peut désormais atteindre 5 000 000 lignes-A par seconde.[12]

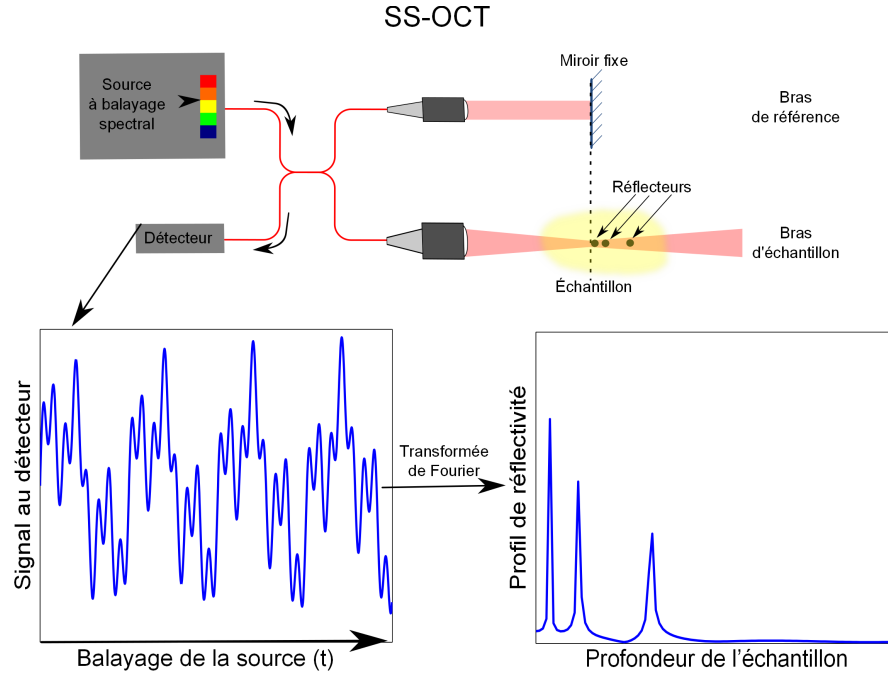


FIGURE 2.2 Montage conventionnel d'un système OCT dans le domaine de Fourier basé sur une source laser à balayage spectral

Outre l'augmentation de la vitesse d'acquisition, les systèmes FD-OCT ont permis une augmentation du rapport signal sur bruit par rapport aux systèmes TD-OCT. En effet, sur chaque ligne-A en TD-OCT, on image un nombre  $n$  de pixels en bougeant le bras de référence durant un temps donné. On ne reste donc qu'un très court laps de temps à chaque profondeur. Dans le domaine de Fourier, chaque longueur d'onde est utilisée pour acquérir sur toute la profondeur de l'échantillon et on obtient donc de l'information sur tous les réflecteurs à chaque instant. Il peut être démontré que cela augmente la sensibilité d'un facteur égal à  $n$ . [13] Cette augmentation du rapport signal sur bruit est justement ce qui permet de balayer plus rapidement tout en obtenant la même sensibilité que pour un TD-OCT. On peut aussi décider d'imager avec plus de sensibilité en diminuant la vitesse d'acquisition. L'OCT dans le domaine de Fourier a donc l'avantage d'être adaptable à l'application médicale choisie. [14]

### 2.1.3 Dérivation du signal obtenu en SS-OCT

Dans le cadre de mon projet de maîtrise, le type d'OCT employé fut le SS-OCT. Le développement mathématique qui suit permet donc de comprendre comment le signal interférométrique est récupéré dans un SS-OCT pour obtenir la même image qu'en TD-OCT. Il est inspiré de celui réalisé par Wang & Wu.[15]

En OCT, on cherche à déterminer le profil de réflectivité d'un échantillon en fonction de sa profondeur, soit  $r'_e(l_e)$ . De plus, dans le cas d'un SS-OCT, un laser à balayage spectral fait varier le nombre d'onde  $k(t) = 2\pi c/\lambda(t)$  temporellement, où  $k(t)$  est relié à la fréquence  $\omega(t)$  de la lumière selon

$$\omega(t) = k(t)c = 2\pi c/\lambda(t). \quad (2.1)$$

Dans la dérivation qui suit, les indices  $R$  et  $e$  représentent des variables associées respectivement au bras de référence et au bras d'échantillon. Ainsi, les expressions du champ électrique provenant des bras de référence  $E_R(\omega)$  et d'échantillon  $E_e(\omega)$  pour chaque valeur discrète de  $\omega$  dans le système sont données par

$$E_R(\omega) = E_0(\omega)r_R \exp[i[2k_R(\omega)l_R - \omega t]] \quad (2.2)$$

$$E_e(\omega) = E_0(\omega) \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) \exp[i[2k_e(\omega)l_e - \omega t]] dl_e, \quad (2.3)$$

où  $E_0(\omega)$  est le champ électrique incident du laser et  $l_R$  et  $l_e$  sont respectivement la longueur des bras de référence et d'échantillon. Le bras de référence ne comptant qu'un miroir ayant une réflectivité  $r_R$  et une position fixe, on peut s'affranchir de l'intégrale dans l'expression de son champ électrique. Ce n'est pas le cas dans le cas du bras d'échantillon pour lequel il faut intégrer la réflectivité apparente  $r'_e$  sur chaque intervalle  $dl_e$  du bras.

L'interférogramme obtenu est l'intensité mesurée au détecteur provenant de la recombinaison cohérente des deux champs, soit

$$\begin{aligned} I(k) &= |E_R(kc) + E_e(kc)|^2 \\ &= S(k) \left[ r_R^2 + 2r_R \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) \cos[2k[n_e l_e - l_R]] dl_e + \left| \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) \exp[i2kn_e l_e] dl_e \right|^2 \right], \end{aligned} \quad (2.4)$$

où  $S(k)$  est le spectre de la source et  $n_e$  est l'indice de réfraction moyen de l'échantillon. Dans notre cas, le spectre est approximé comme étant de forme gaussienne avec un écart-type  $\sigma_w$

centré autour d'une fréquence  $\omega_0$  particulière, soit

$$S(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_\omega} \exp \left[ \frac{-(\omega - \omega_0)^2}{2\sigma_\omega^2} \right]. \quad (2.5)$$

L'interférogramme résultant contient donc trois termes. Le terme nous intéressant est celui de l'interférence croisée entre l'échantillon et le bras de référence, soit le deuxième. On voit que les différentes fréquences de la sinusoïde résultant de ce terme dépendent de la distance relative entre le bras de référence et les rétrodiffuseurs dans le bras d'échantillon. Les deux autres termes retrouvés dans l'interférogramme doivent être éliminés, car ils ne correspondent pas à de l'interférence croisée entre les deux bras. Le premier terme est continu et est issu du bras de référence seulement. Le troisième terme provient quant à lui uniquement de l'auto-interférence du bras d'échantillon. Afin de les éliminer, on utilise des circulateurs, composants fibrés non-réciproques à trois branches, qui font sortir la lumière réfléchiée des deux bras par leur troisième branche au lieu de recombinaison les signaux dans le même coupleur comme en TD-OCT. En combinant la lumière provenant de la sortie des circulateurs à l'aide d'un autre coupleur, on induit un déphasage de  $\pi$  dans un des bras de sortie par rapport à l'autre, ce qui inverse le signe du deuxième terme de l'équation 2.1.3. Par l'utilisation d'un détecteur balancé, on soustrait le signal obtenu des deux bras de sortie du coupleur, ce qui fait en sorte que les premier et troisième termes de l'équation s'annulent alors qu'on double le deuxième terme.

En analysant l'équation de l'interférogramme, on remarque aussi que la fréquence du deuxième terme sera la même pour un réflecteur placé à distance égale de part et d'autre de la position du zéro de l'interféromètre. Cela peut causer un repliement de l'image sur elle-même, car on ne peut distinguer les distances positives et négatives. En pratique, pour s'affranchir de cet effet, on peut déplacer le miroir de référence pour que l'échantillon n'occupe qu'une moitié de la distance sondée.

Puisque la fréquence obtenue dépend de la distance relative entre  $l_R$  et  $l_e$ , on peut arbitrairement poser  $l_R = 0$ . Sachant que  $r'_e(l_e) = r'_e(-l_e)$ , on trouve donc que le deuxième terme peut se réécrire

$$\begin{aligned} I(k) &= S(k) 2r_R \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) \cos [2k [n_e l_e - l_R]] dl_e \\ I(k) &= S(k) r_R \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) [\exp [i2kn_e l_e] + \exp [-i2kn_e l_e]] dl_e \\ I(k) &= S(k) 2r_R \int_{-\infty}^{\infty} r'_e(l_e) \exp [i2kn_e l_e] dl_e. \end{aligned} \quad (2.6)$$

Ensuite, en effectuant le changement de variable  $l_e = l'_e/2n_e$  et en utilisant la définition de la transformée de Fourier

$$F(k) = \mathcal{F} \{f(l'_e)\} (k) = \int_{-\infty}^{\infty} f(l'_e) \exp [ikl'_e] dl'_e, \quad (2.7)$$

on obtient

$$I(k) = S(k) 2 \frac{r_R}{n_e} \mathcal{F} \left\{ f\left(\frac{l'_e}{2n_e}\right) \right\} (k). \quad (2.8)$$

Puisque la transformée de Fourier d'une multiplication de deux termes est la convolution entre les deux, on obtient

$$\mathcal{F}^{-1} \{I(k)\} (l'_e) = \mathcal{F}^{-1} \{S(k)\} (l'_e) \otimes \frac{2r_R}{n_e} r'_e \left( \frac{l'_e}{2n_e} \right). \quad (2.9)$$

en appliquant une transformée de Fourier inverse à l'équation 2.8. On peut alors isoler le profil de réflectivité de l'échantillon  $l_e$  par le changement de variable  $l_e = l'_e/2n_e$  :

$$r'_e(l_e) = \frac{n_e}{2r_R} \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{I(k)}{S(k)} \right\} (2n_e l_e). \quad (2.10)$$

Pour construire l'image, on échantillonne la fonction  $I(k(t))$  durant le balayage spectral et on effectue une transformée de Fourier discrète pour obtenir le profil de réflectivité  $r'_e(l_e)$ .

### 2.1.4 Performance d'un système OCT

Afin de mesurer la performance d'un système OCT, les métriques suivantes sont utilisées : la résolution axiale, la résolution latérale, la profondeur de pénétration et la compensation de la dispersion. Ainsi, une particularité en OCT vient du fait que les résolutions axiale et latérale sont découplées. La première dépend de la longueur de cohérence de la source, alors que la deuxième dépend de l'optique utilisée.

La longueur de cohérence d'une source étant issue de sa fonction d'autocorrélation, la résolution axiale d'une source gaussienne (voir équation 2.5) est donnée par

$$r_{ax} = \frac{2 \ln 2}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}, \quad (2.11)$$

où  $\lambda_0$  est la longueur d'onde centrale de la source utilisée et  $\Delta \lambda$  est sa largeur spectrale.[16] On voit donc que la résolution axiale va en s'améliorant (i.e.  $r_{ax}$  diminue) si on diminue la longueur d'onde centrale ou si on augmente la largeur spectrale.

La résolution latérale est dictée par l'ouverture numérique du faisceau et est donnée par

$$r_{lat} = \frac{4\lambda_0}{\pi} \frac{f}{D}, \quad (2.12)$$

où  $D$  est le diamètre du faisceau sur la lentille objectif et  $f$  est la distance focale de la lentille. Une meilleure résolution latérale pourra être obtenue si on augmente l'ouverture numérique effective de la lentille (en augmentant le diamètre du faisceau incident par exemple).

La profondeur de pénétration dépendra grandement de deux facteurs indépendants : la transparence de l'échantillon et l'optique utilisée. La profondeur de pénétration sera affectée tout dépendant des coefficients de diffusion et d'absorption de l'échantillon. De plus, un échantillon dont la surface est très réfléchissante fera en sorte que moins de photons pénétreront profondément. Ensuite, l'utilisation d'un faisceau restant focalisé sur une grande distance améliorera la profondeur de pénétration. En s'affranchissant de l'influence de l'échantillon, on peut donc estimer que la profondeur de pénétration d'un système OCT est dictée par la longueur de Rayleigh, soit la longueur pour laquelle le front d'onde est considéré quasi-plan et permet l'interférence. Elle est donnée par

$$\delta z = \frac{\pi r_{lat}^2}{2\lambda_0}. \quad (2.13)$$

On remarque qu'une détérioration de la résolution latérale, donc une augmentation de sa valeur, entraînera une augmentation de la profondeur de pénétration. Le compromis du design en OCT est donc lié aux choix de  $r_{lat}$  par rapport à  $\delta z$ , et non au choix de  $r_{lat}$  par rapport à  $r_{ax}$ .

Une dernière métrique à caractériser pour vérifier la performance d'un système OCT est l'effet de la dispersion, qui peut devenir importante lorsque des sources large bande sont utilisées. En effet, puisque l'indice de réfraction est différent pour chacune des longueurs d'onde dans un matériau, le faisceau ne se propagera pas à la même vitesse pour chacune des longueurs d'onde. Une façon simple de s'affranchir de la dispersion est de dupliquer parfaitement le parcours optique dans les deux bras en imposant les mêmes longueurs pour chaque milieu utilisé (verre, air et fibre). Si ce n'est pas le cas, une dégradation de la résolution axiale sera observée, car la résolution en OCT est reliée au temps pour lequel la source reste cohérente autour du zéro de l'interféromètre. Ce temps augmentera pour deux principales raisons. Premièrement, certaines longueurs d'onde seront ralenties par rapport à d'autres. Deuxièmement, les deux enveloppes définissant le voyage de toutes les longueurs d'onde dans les bras de référence et d'échantillon respectivement ne seront plus superposées. Ce léger décalage augmentera la

plage temporelle durant laquelle il est possible d'avoir de l'interférence. La distance autour de la différence de marche nulle pour laquelle il est possible d'interférer augmentera donc, diminuant de ce fait la résolution axiale.

## 2.2 Évolution des sources laser pour l'OCT

Le développement de l'OCT n'est pas uniquement dû à l'évolution du montage interférométrique du domaine temporel au domaine fréquentiel. Il est également passé par l'évolution des sources laser. Ainsi, la puissance des sources employées influe sur l'intensité du signal capté en OCT, tandis que la largeur de bande disponible déterminera la résolution atteignable par le système.

Dans le cas des sources laser pour les systèmes TD-OCT, on a commencé par utiliser des diodes superluminescentes qui avaient une puissance et un spectre suffisants pour en prouver le concept.[5] Par la suite, pour permettre une meilleure résolution, il fallut trouver des sources à plus large spectre. On commença donc à utiliser des lasers à état solide comme le laser titane-saphir dont la largeur de bande peut atteindre 260 nm, ce qui donne une résolution axiale de  $1,5\text{ }\mu\text{m}$  (en supposant un contrôle parfait de la dispersion).[17] De nouvelles sources basées sur des fibres à cristaux photoniques ont été envisagées et commencent à être implantées. Celles-ci permettraient d'avoir un supercontinuum, soit un élargissement marqué du spectre permettant d'atteindre des résolutions submicrométriques. Toutefois, la densité spectrale de puissance (mW/nm) de ces sources est encore faible.

Comme mentionné dans la section précédente, puisqu'il est difficile d'obtenir des images tridimensionnelles en temps réel en TD-OCT et que la sensibilité en profondeur des SD-OCT est limitée par leur résolution spectrale, des systèmes OCT basés sur un balayage laser furent développés. Avant l'avènement des sources accordables, on utilisait une ligne à délai spectral dans le bras de référence avec une source large bande. Les SS-OCT sont toutefois mieux servis par des sources accordables spectralement, car cela permet de plus grandes densités spectrales de puissance. En effet, on amplifie une longueur d'onde à la fois dans la cavité au lieu de raffiner une large plage de longueurs d'onde à l'extérieur de la cavité.

Les premières sources accordables furent basées sur l'utilisation d'un miroir oscillant et un réseau de diffraction dans la cavité laser.[18] L'utilisation d'un miroir oscillant n'est toutefois pas idéale, puisqu'il fonctionne par aller-retour. En effet, on commence par balayer des faibles longueurs d'onde aux longueurs d'onde élevées avant de faire l'inverse. Cela ralentit l'acquisition, car le miroir galvanométrique ne peut être utilisé en continu mais doit plutôt ralentir



avant de changer de direction. Des sources basées sur des miroirs polygonaux en rotation furent développées afin d'accélérer le processus et obtenir un balayage spectral unidimensionnel. Cette première mouture permettait d'obtenir 15 700 lignes-A par seconde.[19]

Par la suite, l'utilisation de filtres Fabry-Pérot accordables a permis d'augmenter la vitesse successivement de 236 000 à 370 000 lignes-A par seconde.[20; 21] La plage d'accordabilité de ces filtres est toutefois restreinte si on veut une largeur spectrale instantanée faible. Tout comme c'est le cas des sources utilisant un galvanomètre, les filtres Fabry-Pérot balaient le spectre dans les deux directions. Bien que leur vitesse d'acquisition soit plus élevée, un problème subsiste : les milieux de gain sont plus efficaces dans une direction que dans l'autre. Le balayage dans une direction par rapport à l'autre produit également un décalage de la bande spectrale accordable.[22] Enfin, leur balayage spectral est hautement non-linéaire, ce qui rend difficile le traitement informatique du signal OCT.[23] Malgré ces limitations, des sources laser accordables basées sur des filtres Fabry-Pérot peuvent atteindre des vitesses d'acquisition très élevées. Ainsi, la dispersion d'impulsions issues d'une source à supercontinuum comme méthode de balayage spectral a permis d'atteindre des vitesses de 5 000 000 lignes-A par seconde.[12] La sensibilité de systèmes utilisant de telles sources se dégrade toutefois en profondeur à cause du bruit de la source qui diffère d'une impulsion à l'autre.

L'utilisation de miroirs polygonaux dans les filtres spectraux des sources accordables demeure donc d'actualité, car elle permet de faire un bon compromis entre vitesse d'acquisition élevée (jusqu'à 1 066 666 lignes-A par seconde à l'aide des polygones les plus rapides disponibles commercialement) et sensibilité.

## 2.3 Domaines d'application de l'OCT

Depuis quelques années, différentes applications novatrices de l'OCT en diagnostic font les manchettes des publications scientifiques. Cet essor de l'OCT dans le domaine médical a débuté en ophtalmologie avec les résultats obtenus par interférométrie sur des tissus oculaires. Ainsi, avant même l'avènement de l'OCT par Huang, l'équipe d'A.F. Fercher a développé vers la fin des années 1980 une méthode interférométrique basée sur la lumière à basse cohérence temporelle pour mesurer les distances entre les différents tissus oculaires.[24] Après les images de l'œil obtenues ex vivo par Huang, il fallut attendre en 1993 pour obtenir des images in vivo avec un système OCT.[25]

Le développement de cathéters fibrés et de l'OCT dans le domaine de Fourier a par la suite étendu les domaines d'utilisation de l'appareil qui ne se limitent alors plus à l'ophtalmologie

et à la dermatologie. Ainsi, l'imagerie OCT en temps réel a permis de s'affranchir des mouvements physiologiques comme la respiration et le battement cardiaque et a donc rendu possible l'imagerie in vivo. Un des groupes pionniers dans ce domaine fut celui du MIT qui présenta en 1996 un premier endoscope fibré intravasculaire servant à imager une artère humaine in vitro.[26] Leur système permet l'acquisition de lignes-A de la paroi artérielle en déviant la lumière focalisée par une lentille GRIN (pour *Gradient Index Lense*) perpendiculairement à l'axe de l'endoscope à l'aide d'un micro-prisme. Une image 2D est obtenue par rotation de l'endoscope à l'aide de jonctions dites rotatives. Ces dernières permettent de faire tourner les fibres optiques sans torsion avec un couplage optique optimal avec le reste du système et ont grandement contribué à la prolifération des applications de l'OCT en endoscopie.[27]

L'apparition de l'OCT à haute résolution, soit une résolution subcellulaire d'environ  $1\text{ }\mu\text{m}$ , a aussi permis le développement de l'OCT endoscopique qui constitue une application intéressante pour le futur de cette modalité d'imagerie.[17] En effet, autant en cardiologie qu'en gastroentérologie, il y a présentement un essor dû au couplage de l'OCT avec l'endoscopie. Dans le domaine de la cardiologie, les systèmes OCT permettent d'imager in vivo les plaques d'athérosclérose.[28] L'OCT permet même de faire un suivi après la pose d'un stent pour vérifier si une nouvelle sténose se crée ou s'il y a risque accru de rupture d'anévrisme.[29] En gastroentérologie, l'OCT est couplée à des endoscopes servant à la biopsie pour cibler les zones à risque où l'on va ensuite effectuer des prélèvements. Par exemple, l'endobrachyœsophage (le remplacement du tissu œsophagien par un tissu intestinal), est précurseur du cancer et est détectable par OCT sous la forme d'une diminution de la rétrodiffusion causée par un arrangement désorganisé des tissus nouvellement formés.[30]

Ces nouvelles applications font en sorte que le marché mondial de l'OCT est en croissance de 34 % annuellement et pourrait atteindre près de 800 millions de dollars mondialement dans les années à venir.[31] Les voies d'avenir, autant en gastroentérologie qu'en cardiologie, sont basées sur des techniques novatrices de l'OCT, telles que l'OCT multimodale.

## 2.4 Imagerie multimodale

Afin de repousser les limites diagnostiques des systèmes OCT, le développement de nouvelles applications, la conception de sources laser mieux adaptées et l'amélioration du montage sont des avenues intéressantes. Les systèmes OCT présentent toutefois des limites intrinsèques. On peut pallier à ces limites en combinant l'OCT à une autre modalité d'imagerie complémentaire. Ainsi, la fabrication de systèmes multimodaux est particulièrement en vogue ces dernières années.

### 2.4.1 OCT à plusieurs bandes spectrales

Il peut être utile de combiner deux systèmes OCT à différentes bandes spectrales. Ainsi, le système ayant une courte longueur d'onde centrale offrira une meilleure résolution, tandis que le système ayant une longueur d'onde centrale plus élevée aura une meilleure profondeur de pénétration.[32] La combinaison des deux images permet également de diminuer le bruit de tavelures, ce qui permet de distinguer plus facilement les vaisseaux sanguins.

Un avantage important de l'utilisation de deux bandes spectrales est la possibilité de différencier les différents composants selon leur coefficient d'atténuation.[33] Ainsi, si on image la peau, les mélanocytes vont mieux rétrodiffuser les grandes longueurs d'onde mais vont absorber les courtes longueurs d'onde.[34] De la même façon, le ratio d'absorption entre l'oxy-hémoglobine et la déoxy-hémoglobine s'inverse autour de 800 nm. L'utilisation de deux OCT de part et d'autres de 800 nm permettrait donc d'effectuer des plans d'oxygénation des tissus imagés.[35]

Quelques implémentations d'OCT multibande ont déjà été réalisées. Les premières études se limitaient à l'OCT dans le domaine temporel avec deux sources large bande distinctes.[36] L'apparition de supercontinuuums a par la suite permis de n'utiliser qu'une seule source, mais la vitesse d'acquisition était toujours limitée par le balayage mécanisé du bras de référence ainsi que par la faible densité spectrale de puissance de ces sources. L'apparition des systèmes SD-OCT multibande a permis de franchir cette limite.[37] Des sources multibandes accordables spectralement de manière simultanée firent ensuite leur apparition, ce qui a permis de concevoir des SS-OCT multibandes (1310 et 1500 nm).[38] Toutefois, à notre connaissance, aucun SS-OCT n'a été conçu avec des bandes spectrales suffisamment éloignées pour avoir une grande influence sur l'atténuation des tissus, et donc sur les images obtenues. Parvenir à concevoir un laser pour un tel système est donc un premier objectif de mon projet de maîtrise.

### 2.4.2 Systèmes multimodaux contenant un OCT

L'OCT ne pouvant intrinsèquement atteindre la résolution offerte par l'histologie, plusieurs systèmes multimodaux ont été conçus dans différents laboratoires afin de compenser cette faiblesse tout en conservant la profondeur de pénétration disponible en OCT. Par exemple, dans l'application en gastroentérologie mentionnée plus haut, il est difficile de cibler avec précision les zones où effectuer la biopsie à l'aide d'un endoscope en lumière blanche. L'OCT est alors utilisé comme une technique complémentaire pour cibler les zones à risque dans

l'œsophage. Un prélèvement est ensuite effectué pour une étude histologique à meilleure résolution afin de confirmer le diagnostic. Cette procédure est toutefois lente, puisqu'il faut attendre la fixation et la coloration de l'échantillon avant de pouvoir l'imager et poser un diagnostic.

De plus, pour pallier une fois de plus la faible résolution de l'OCT tout en exploitant sa grande vitesse d'acquisition et profondeur de pénétration, Iftimia et al. ont conçu un système bimodal combinant l'OCT et la microscopie confocale par balayage laser (*Laser Scanning Confocal Microscopy* ou LSCM) dont le potentiel en dermatologie a été démontré.[39] Dans le cas de grands brûlés, l'OCT permet de visualiser la destruction du collagène en profondeur, tandis que le microscope confocal permet d'obtenir des images en face à haute résolution de l'intégrité des couches de l'épiderme. Dans le cas de ce système, la prise d'images reste relativement lente, puisqu'il faut effectuer un balayage mécanisé de l'échantillon.

Les deux systèmes décrits ci-haut présentent des faiblesses, notamment dans la vitesse d'acquisition. L'utilisation de deux sources à balayage laser dans le montage OCT et confocal permettrait de substituer le balayage mécanisé dans un axe en confocal par un balayage spectral, accélérant du coup la vitesse d'acquisition.[40] Couplé à un endoscope, un tel système permettrait d'effectuer une biopsie optique dans le cas du système OCT/biopsie en gastroentérologie, permettant du coup de substituer à la biopsie des images haute résolution obtenues par un système SECM. Un deuxième objectif du projet est donc de démontrer le potentiel d'une source laser à balayage spectral double-bande à être utilisée dans un système OCT/SECM afin de réaliser cette application.

Finalement, afin de rajouter une information fonctionnelle aux images structurales obtenues par OCT, plusieurs systèmes bimodaux combinant l'OCT et la fluorescence furent mis au point par différentes équipes. En gastroentérologie, l'OCT permet de cibler le développement de masses suspectes dans le colon tandis que la fluorescence confirme le diagnostic, car elle est plus présente dans les adénomes contrairement aux cellules cancéreuses.[41] En dentisterie, la déminéralisation de l'émail au début de la formation d'une carie se présente autant sous la forme d'une plus grande profondeur de pénétration en OCT que d'une perte du signal en fluorescence.[42] Un troisième objectif de mon projet est donc de démontrer le potentiel d'une source laser à balayage spectral double-bande à être utilisée dans un système combinant l'OCT et la fluorescence.

## CHAPITRE 3

### LASER À BALAYAGE SPECTRAL DOUBLE-BANDE

Tel que discuté dans la revue de littérature, des sources laser accordables basées sur un polygone rotatif et un réseau de diffraction ont été développées afin d'améliorer la vitesse d'acquisition des systèmes d'imagerie tout en conservant une résolution élevée. Ce chapitre décrit la théorie régissant le fonctionnement de la source laser à balayage spectral double-bande simultanée ainsi que les résultats expérimentaux issus de sa caractérisation.

#### 3.1 Choix des milieux de gain

Le choix du milieu de gain pour une source laser à balayage spectral s'avère primordial et dépendra de l'application ou du type d'échantillon biologique étudié. On peut ainsi favoriser une pénétration élevée dans l'échantillon ou encore une résolution accrue. Généralement, la sélection d'une bande de longueurs d'onde plus élevées (1300-1550 nm) permet une meilleure profondeur de pénétration, car ces longueurs d'onde sont moins diffusées par les tissus biologiques.[43] Si une meilleure résolution est nécessaire, des longueurs d'onde plus courtes (780-1050 nm) seront mieux adaptées.[44] Ainsi, pour concevoir la source laser à balayage spectral double-bande, le choix s'est arrêté sur deux milieux de gain : l'un centré sur une faible longueur d'onde et l'autre centré sur une longueur d'onde plus élevée. La source permet ainsi de combiner une haute résolution à faible longueur d'onde et une profondeur de pénétration accrue aux longueurs d'onde élevées.

De plus, les milieux de gain choisis peuvent être en espace libre (*free space*) ou couplés à des fibres optiques. Ces derniers sont plus robustes et moins enclins au désalignement, permettant ainsi une utilisation en clinique. Les principaux milieux de gain fibrés offrant une large bande spectrale se retrouvent sous la forme de BOA (*Booster Optical Amplifier*) ou de SOA (*Semiconductor Optical Amplifier*). La puissance de sortie est inférieure dans le cas des SOAs, car ils sont conçus afin d'être indépendants en polarisation contrairement aux BOAs. Afin de maximiser la puissance de sortie disponible, un BOA a été employé dans la source conçue pour le projet. Les bandes spectrales disponibles pour les milieux de gain fibrés sont typiquement centrées autour de 850 nm, 1 050 nm, 1 300 nm ou 1 500 nm.

### 3.1.1 Choix du milieu de gain à 1300 nm

Le milieu de gain choisi pour la bande spectrale offrant une meilleure profondeur de pénétration a une longueur d'onde centrale de 1300 nm et non de 1500 nm pour deux principales raisons. Tout d'abord, la dispersion (ou le changement d'indice de réfraction) est moins marquée autour de 1300 nm qu'autour de 1500 nm pour la fibre unimodale SMF-28 (*Corning*, NY, É.-U.) utilisée dans les composants fibrés (SOA, coupleurs, circulateurs, etc.) à ces longueurs d'onde. En effet, la dispersion dans cette fibre est donnée par

$$D(\lambda) = \frac{S_0}{4} \left[ \lambda - \frac{\lambda_0^4}{\lambda^3} \right], \quad (3.1)$$

où  $S_0 = 0,086 \frac{\text{ps}}{\text{nm} \cdot \text{km}}$  est la pente au zéro de dispersion ( $\lambda_0 = 1317 \text{ nm}$ ). [45] On voit sur la figure 3.1 que puisque l'on est loin du zéro de dispersion à 1500 nm, le moindre débalancement entre les longueurs de fibre des bras de référence et d'échantillon en OCT dégradera la résolution axiale du système.

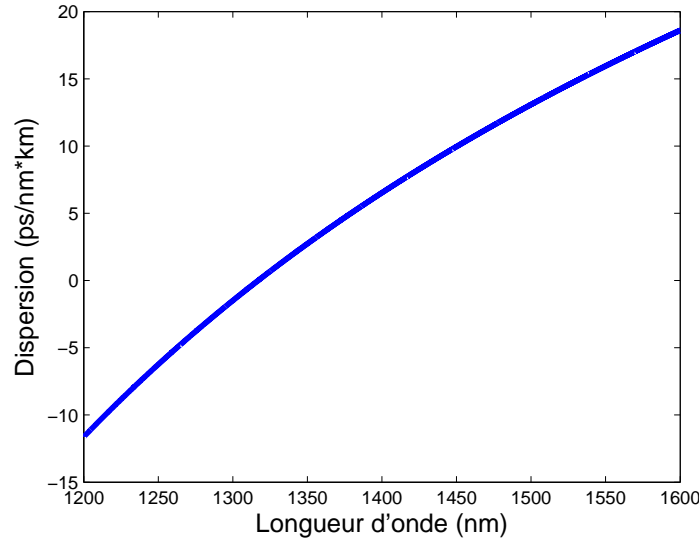


FIGURE 3.1 Dispersion de la fibre SMF-28 en fonction de la longueur d'onde. Image adaptée de [www.corning.com](http://www.corning.com). Consulté le 2 avril 2013.

La deuxième raison pour laquelle le premier milieu de gain choisi se trouve à 1300 nm et non à 1500 nm réside dans le fait que la plupart des échantillons biomédicaux sont constitués en grande partie d'eau. On choisit donc la bande de longueurs d'onde minimisant l'absorption de l'eau tel qu'illustré à la figure 3.2 afin d'obtenir une meilleure profondeur de pénétration. [46]

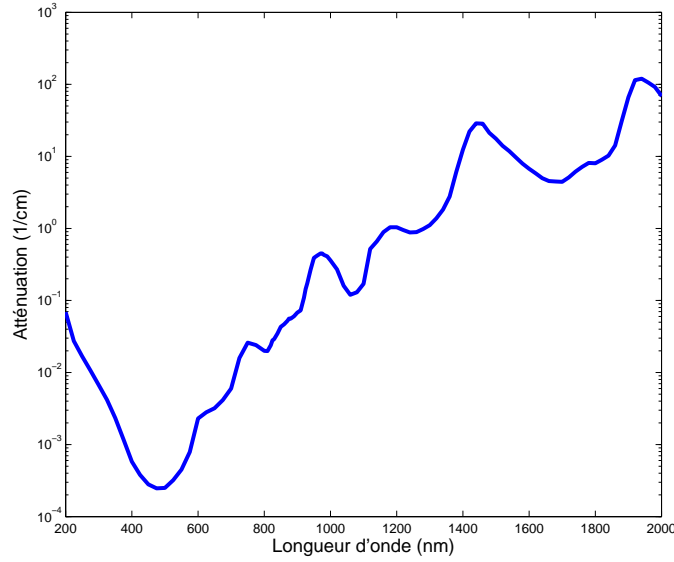


FIGURE 3.2 Absorption de l'eau en fonction de la longueur d'onde. Image adaptée de [46]. Consulté le 2 avril 2013.

Les spécifications du milieu de gain choisi, un BOA centré à 1 300 nm (BOA1132S, *Covega*, New Jersey, É.-U.), sont présentées au tableau 3.1. Ces données seront utilisées pour concevoir la cavité. Ainsi, la largeur de bande du laser servira à déterminer les caractéristiques du filtre spectral, tandis que la puissance de saturation permettra de déterminer le ratio des branches du coupleur de sortie. Le choix s'est arrêté sur un BOA et non sur un SOA, car les SOAs offrent généralement un gain moins élevé dû au fait qu'on doit les rendre indépendants en polarisation. Dans notre cas, pour s'assurer de maximiser le gain obtenu par le BOA, un contrôleur de polarisation a été placé en amont de celui-ci (voir figure 3.3).

TABEAU 3.1 Spécifications du milieu de gain à 1300 nm

	Symbole	Valeur
Longueur d'onde centrale	$\lambda_0$	1300 nm
Largeur de bande à -3 dB	$\Delta\lambda$	80 nm
Puissance de saturation	$P_{sat}$	50 mW

### 3.1.2 Choix du milieu de gain à 780 nm

Des considérations matérielles ont influencé le choix du milieu de gain à faible longueur d'onde centrale. Tout d'abord, les milieux de gain fibrés ont un seuil de dommage assez bas.[47] Pour

obtenir une puissance de sortie élevée (quelques dizaines de milliwatts), il importe d’avoir une puissance intra-cavité de cet ordre de grandeur, ce qui est plus élevé que le seuil de dommage des SOAs et BOAs à 800 nm.[47] De plus, puisqu’il n’existe pas de circulateurs de Faraday efficaces aux faibles longueurs d’onde, il est difficile de concevoir une cavité circulaire sans pertes (voir section 3.2.2). Tenant compte de ces considérations, notre choix s’est arrêté sur un milieu de gain en espace libre ayant une longueur d’onde centrale de 780 nm (TEC-120-0780-120, *Sacher Lasertechnik*, Marburg, Allemagne) et les spécifications présentées au tableau 3.2.

TABLEAU 3.2 Spécifications du milieu de gain à 780 nm

	Symbole	Valeur
Longueur d’onde centrale	$\lambda_0$	780 nm
Largeur de bande à -3 dB	$\Delta\lambda$	36 nm
Puissance de saturation	$P_{sat}$	120 mW

## 3.2 Assemblage d’une source à balayage spectral

L’assemblage d’une source laser accordable spectralement varie grandement selon que le milieu de gain est fibré ou en espace libre. Tout dépendant des pièces optiques disponibles commercialement, une cavité circulaire ou linéaire peut être mieux adaptée pour en diminuer les pertes.

### 3.2.1 Assemblage basé sur un milieu de gain fibré

La figure 3.3 montre le schéma général d’une source laser accordable basée sur un milieu de gain fibré à deux ports (i.e. une entrée et une sortie). L’émission spontanée large bande émise par un des ports du milieu de gain (BOA) est acheminée par un circulateur ( $C_1$ ) à un filtre spectral. Le filtre spectral est constitué d’un collimateur, d’un réseau de diffraction et d’un miroir polygonal. Un réseau diffracte les différentes longueurs d’onde émises par le milieu de gain vers un télescope télécentrique composé de deux lentilles de focales  $f_1$  et  $f_2$ . Le télescope fait converger les longueurs d’onde divergentes à partir du réseau vers le polygone qui ne réfléchit sur elle-même que la longueur d’onde normale à sa surface, soit  $\lambda_1$  dans le cas de la figure 3.3. Cette longueur d’onde retourne ensuite successivement vers le télescope, le réseau de diffraction et le collimateur. Les autres longueurs d’onde ne peuvent revenir vers le collimateur, car leur angle de réflexion n’est pas normal à la surface du polygone.



Afin de concevoir une cavité circulaire, un circulateur de Faraday ( $C_1$ ) est utilisé. Cette pièce est un système micro-optique non-réciproque à trois branches : la lumière provenant de la branche 1 est transférée à la branche 2, et celle provenant de la branche 2 est transférée à la branche 3. Le circulateur sert donc d'isolateur et dicte la direction de propagation de la lumière dans la cavité fibrée. La lumière passe ensuite dans un coupleur à deux sorties. La sortie  $b$  se reconnecte au port d'entrée du BOA, ce qui permet de fermer la cavité et de favoriser le gain par des trajets successifs dans celle-ci. Le port de sortie  $c$  du coupleur sert de sortie au laser qui sera relié à la fois à un système de déclenchement d'acquisition (voir section 3.3.2) et au système d'imagerie.

Le mécanisme de balayage spectral de la source est basé sur la rotation du miroir polygonal. En effet, la longueur d'onde amplifiée à chaque instant dans la cavité est celle qui est normale à la surface du polygone. Pour chaque position du polygone durant sa rotation, une longueur d'onde différente remplira cette condition (voir figure 3.3). Le polygone ayant un nombre  $n$  de facettes, chacune va refléter le spectre complet du BOA, ce qui fait en sorte que pour un tour du polygone, on a  $n$  balayages spectraux successifs.[19]

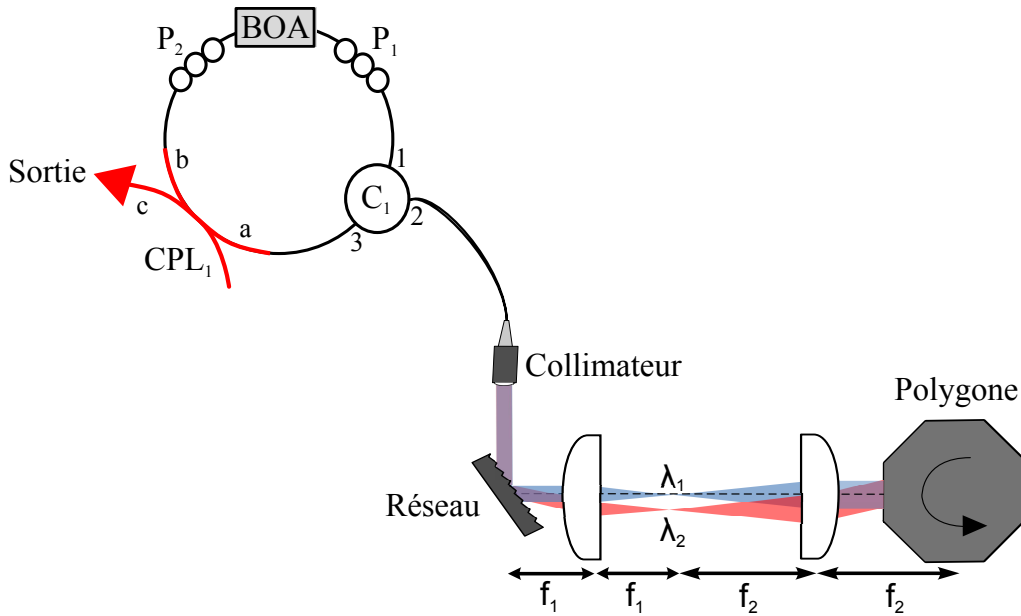


FIGURE 3.3 Schéma d'une source laser accordable spectralement basée sur un milieu de gain fibré à deux ports et sur un polygone rotatif.  $C_1$  est un circulateur,  $P_1$  et  $P_2$  sont des contrôleurs de polarisation et  $CPL_1$  est un coupleur.

De plus, puisque la lumière voyage beaucoup plus rapidement que le polygone ne tourne sur lui-même, plusieurs passages sont possibles dans la cavité pour chaque position du polygone, ce qui permet de créer l'effet laser pour chaque longueur d'onde. Ainsi, en ayant une cavité

de 2 m, un aller-retour dans la cavité prend 6,7 ns. De plus, dans le cas de la cavité à 1 300 nm offrant une largeur de bande  $\Delta\lambda = 80$  nm et une largeur spectrale instantanée  $\delta\lambda = 135$  pm (voir équation 3.10), le polygone reste statique pour un intervalle

$$t = \frac{\delta\lambda}{v\Delta\lambda} \quad (3.2)$$

avant de changer de position lorsqu'il tourne à une vitesse  $v = 12\,000$  spectres/s. On obtient alors  $t = 141$  ns. 21 allers-retours sont donc possibles pour une position fixe du polygone.

### 3.2.2 Assemblage basé sur un milieu de gain en espace libre

Comme mentionné précédemment, l'utilisation d'un milieu de gain fibré n'est pas toujours appropriée pour obtenir une puissance de sortie satisfaisante à basse longueur d'onde. De plus, dans le cas d'un milieu de gain fibré à deux ports, une cavité circulaire doit être utilisée afin de renvoyer la lumière ayant passé dans le filtre spectral vers le deuxième port du milieu de gain pour amplification, ce qui implique l'utilisation de circulateurs de Faraday.

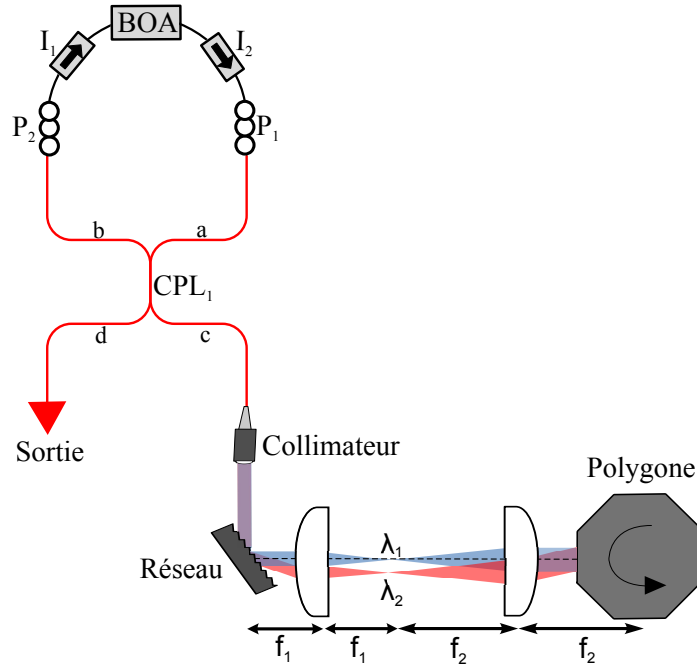


FIGURE 3.4 Schéma d'une source laser accordable spectralement basée sur un milieu de gain fibré à deux ports dans le cas où des circulateurs de Faraday ne sont pas disponibles.  $P_1$  et  $P_2$  sont des contrôleurs de polarisation,  $I_1$  et  $I_2$  sont des isolateurs et  $CPL_1$  est un coupleur.

L'inefficacité à basse longueur d'onde des circulateurs de Faraday rend toutefois cette implémentation difficile à réaliser. On peut remplacer le circulateur par un coupleur entouré d'isolateurs, tel que montré à la figure 3.4, mais cela réduit l'efficacité du filtre spectral. En effet, la lumière à la sortie  $d$  du coupleur lors du premier tour dans la cavité ne passe pas par le filtre spectral. Cela diminuera la qualité du faisceau de sortie avec l'apparition de bruit à d'autres longueurs d'onde que celle réfléchi par le polygone à chaque instant. Une solution proposée par Yun et al. est de rajouter un séparateur de faisceau avant le filtre spectral.[47] Le coupleur de sortie étant situé après le séparateur, toute la puissance de sortie du laser passe à travers le filtre. Ce montage impose toutefois des pertes importantes à l'aller et au retour du séparateur de faisceau, car seulement la moitié de la lumière continue dans la cavité circulaire.

Afin de s'affranchir des problèmes inhérents à une cavité circulaire sans circulateurs de Faraday, une cavité linéaire a été envisagée. Un tel assemblage requiert que la lumière effectue des allers-retours dans la cavité à l'intérieur de laquelle on intègre un filtre spectral (figure 3.5). Le milieu de gain ayant encore deux ports, un des deux ports comprend une surface réfléchissante  $SR$  qui sert à fermer la cavité et de port de sortie, car 3 % de la lumière est transmise à travers  $SR$ . Ce port de sortie est relié à un module d'injection fibré permettant d'envoyer aisément la sortie du laser dans différents systèmes d'imagerie. L'autre port de la cavité est relié à une lentille de collimation  $LC$  et au filtre spectral dont le fonctionnement est le même que dans le cas d'un milieu de gain fibré.

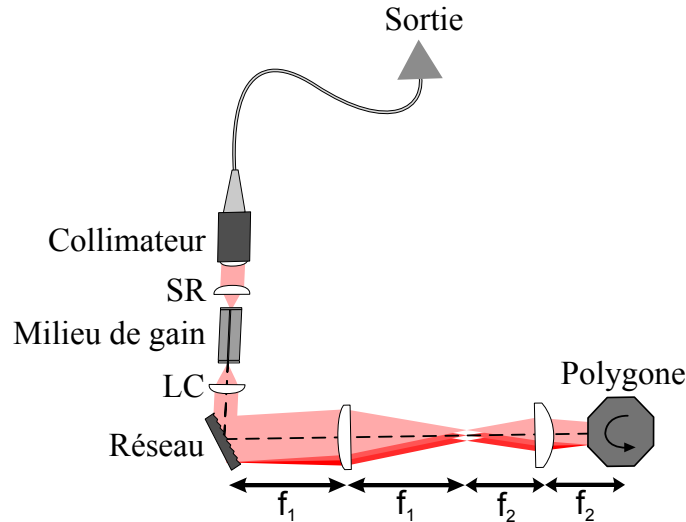


FIGURE 3.5 Schéma d'une source laser accordable spectralement basée sur un milieu de gain en espace libre.  $SR$  est une surface réfléchissante et  $LC$  est une lentille de collimation.

### 3.3 Source à balayage spectral double-bande simultané

L'assemblage d'une source laser à balayage spectral double-bande simultané à l'aide d'un miroir polygonal rotatif repose sur l'utilisation de différentes facettes du même polygone pour chacun des filtres spectraux. Ceci est illustré sur la figure 3.6, où les deux montages présentés aux figures 3.3 et 3.5 sont combinés. Ainsi, une fois les télescopes des deux filtres spectraux alignés sur leur facette respective du polygone, il est possible de balayer simultanément les deux bandes spectrales. Toutefois, l'utilisation d'un même miroir polygonal dans les deux filtres spectraux impose des contraintes sur le choix des focales des lentilles, tel que discuté à la section suivante.

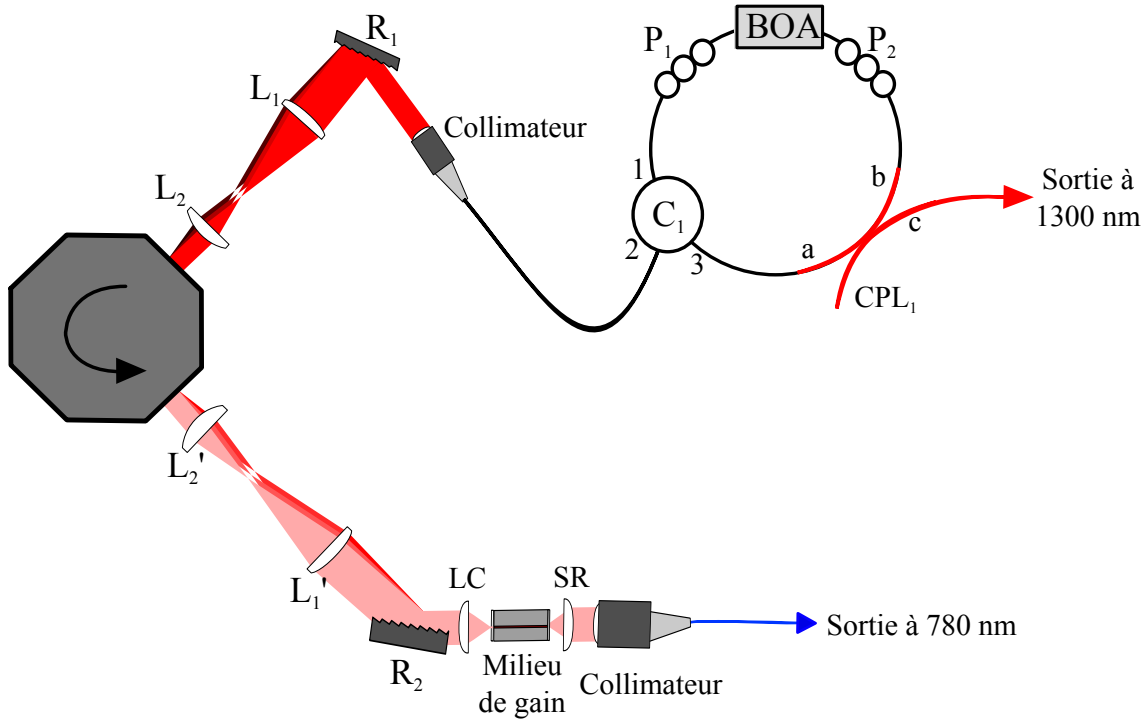


FIGURE 3.6 Schéma d'une source laser à balayage spectral double-bande simultané. Dans la cavité circulaire à 1300 nm,  $C_1$  est un circulateur,  $P_1$  et  $P_2$  sont des contrôleurs de polarisation,  $CPL_1$  est un coupleur,  $L_1$  et  $L_2$  sont les deux lentilles du télescope et  $R_1$  est un réseau de diffraction. Dans la cavité linéaire à 780 nm,  $SR$  est une surface réfléchissante,  $LC$  est une lentille de collimation,  $L'_1$  et  $L'_2$  sont les deux lentilles du télescope et  $R_2$  est le réseau utilisé dans ce filtre spectral.

### 3.3.1 Assemblage des filtres spectraux

#### Réseaux de diffraction

Le filtrage spectral est basé sur un réseau de diffraction. Afin d'atteindre une amplification maximale, la puissance dans l'ordre 1 du réseau de diffraction doit être aussi élevée que possible. Tel qu'illustré à la figure 3.7, la polarisation du faisceau incident influe grandement sur la puissance à l'ordre 1. C'est pourquoi un contrôleur de polarisation  $P_1$  a été placé avant le réseau dans la cavité du laser à 1 300 nm (voir figure 3.3). Un autre facteur influençant le choix du réseau est son pas, soit l'espacement entre deux traits du réseau. Plus le pas est petit (et donc plus la fréquence de traits par mm est élevée), meilleure sera la séparation entre chaque composante spectrale, puisque plus de traits seront illuminés.[48] Le réseau choisi à 1 300 nm (GR13-1210, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) a une efficacité de 82 % dans l'ordre 1 pour une polarisation perpendiculaire et une fréquence  $g = 1\,200$  traits/mm.

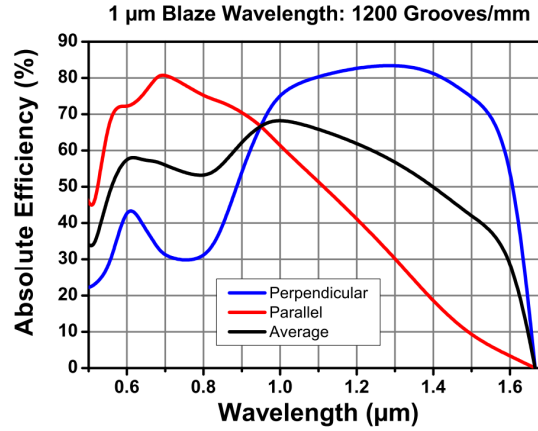


FIGURE 3.7 Efficacité en fonction de la polarisation à l'angle de Littrow ( $36,52^\circ$ ) du réseau de diffraction choisi pour la source à 1300 nm. Tiré de [www.thorlabs.com](http://www.thorlabs.com). Consulté le 3 avril 2013.

La figure 3.7 montre l'efficacité du réseau utilisé à 1 300 nm en configuration de Littrow, pour laquelle l'angle d'incidence et l'angle de diffraction à l'ordre 1 sont identiques. Pour réaliser le filtre spectral, cette configuration n'est pas appropriée, puisqu'on doit envoyer l'ordre 1 de diffraction sur le polygone pour effectuer le balayage spectral. La puissance diffractée à l'ordre 1 diminuant au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la configuration de Littrow, il faut donc s'assurer de minimiser la différence entre l'angle d'incidence choisi et l'angle de Littrow tout en prévoyant suffisamment d'espace pour placer le télescope sans obstruer le faisceau incident. Un angle d'incidence  $\alpha$  de  $40^\circ$  (voir figure 3.8) sur le réseau a donc été choisi pour le filtre spectral à 1 300 nm.

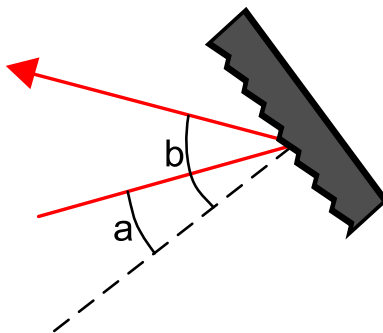


FIGURE 3.8 Définition des angles d'incidence  $a$  et de diffraction  $b$  à l'ordre 1 selon la loi des réseaux (équ. 3.3).

Les mêmes considérations doivent être prises en compte dans le choix du réseau pour la source à 780 nm. La diode laser achetée pour servir de milieu de gain étant en fait une source accordable spectralement, son filtre spectral est à la base constitué d'un réseau de diffraction en configuration Metcalf-Littman.[49]. En faisant osciller le réseau autour de l'angle d'incidence permettant à la longueur d'onde centrale d'être normale à un miroir fixe, une longueur d'onde différente est amplifiée dans la cavité à chaque instant (voir figure 3.9). En effet, pour chaque position du réseau, une longueur d'onde différente se trouve normale au miroir fixe et revient donc sur elle-même pour être amplifiée. Le réseau dans le système industriel a une fréquence  $g = 1\,800$  traits/mm et fut choisi en fonction de la polarisation du faisceau dans la diode laser. Pour réaliser le présent montage, il a fallu tourner le réseau de quelques degrés et enlever le miroir. Cela permet de rajouter le télescope et le polygone, rendant possible le balayage synchronisé des deux sources.

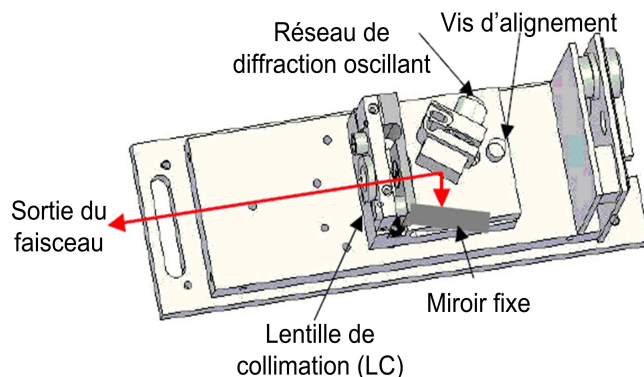


FIGURE 3.9 Schéma illustrant le fonctionnement de la diode à 780 nm basée sur un réseau en configuration Metcalf-Littman. Adaptée de <http://www.sacher-laser.com/>. Consulté le 3 avril 2013.

Pour concevoir le télescope devant être inséré dans le filtre spectral (voir section 3.3.1), il faut connaître la divergence angulaire  $\Delta\theta_1$  entre la longueur d'onde la plus faible  $\lambda_{min}$  et la longueur d'onde la plus élevée  $\lambda_{max}$  après le réseau (voir figure 3.10). Pour la source centrée à 1 300 nm, sachant que la largeur spectrale du milieu de gain est de 80 nm (voir tableau 3.1), les deux longueurs d'onde extrêmes seront  $\lambda_{min} = 1\,260$  nm et  $\lambda_{max} = 1\,340$  nm. L'équation des réseaux

$$\sin a + \sin b = gm\lambda, \quad (3.3)$$

où  $a$  est l'angle d'incidence et  $g$  est la fréquence du réseau,[48] donne un angle de diffraction à l'ordre  $m = 1$  de  $b = 60^\circ$  pour  $\lambda_{min} = 1\,260$  nm et de  $b = 75^\circ$  pour  $\lambda_{max} = 1\,340$  nm (voir figure 3.8). La divergence angulaire entre les deux longueurs d'onde après le réseau est donc  $\Delta\theta_1 = 15^\circ$ . De la même façon on trouve une divergence angulaire  $\Delta\theta_1$  de  $4,5^\circ$  entre  $\lambda_{min}$  et  $\lambda_{max}$  pour le réseau utilisé dans la source centrée à 780 nm.

### Télescopes télécentriques

Les spécifications du télescope télécentrique ont un impact sur la plage spectrale accordable et sur le cycle de travail de la source. Ainsi, le télescope placé dans chacun des filtres spectraux se compose de deux doublets achromatiques conjugués respectivement avec le réseau et l'axe de rotation du polygone. Ce télescope a deux fonctions : il délimite la taille du faisceau sur le polygone et transforme la divergence angulaire  $\Delta\theta_1$  des différentes longueurs d'onde à la sortie du réseau par une convergence  $\Delta\theta_2$  au polygone (voir figure 3.10) selon un rapport

$$\frac{\Delta\theta_2}{\Delta\theta_1} = \frac{f_1}{f_2}. \quad (3.4)$$

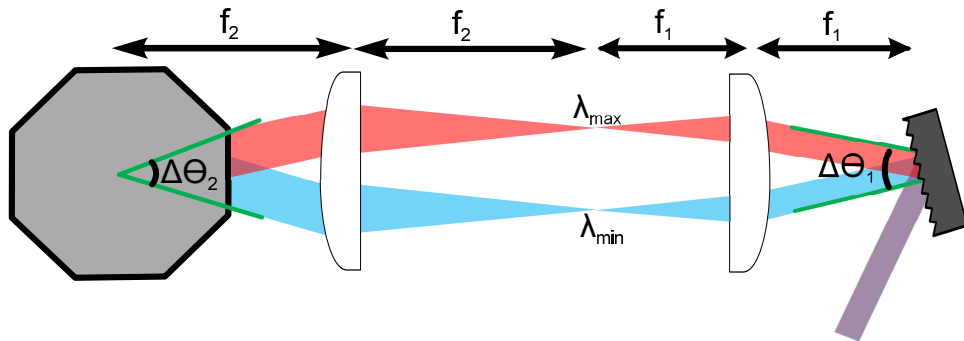


FIGURE 3.10 Télescope transformant la divergence angulaire  $\Delta\theta_1$  des différentes longueurs d'onde après le réseau par une convergence  $\Delta\theta_2$  au polygone dans les filtres spectraux.

Pour un polygone ayant  $n$  facettes, la différence angulaire  $\Delta\theta_2$  entre la diffraction de la longueur d'onde la plus faible  $\lambda_{min}$  et la longueur d'onde la plus élevée  $\lambda_{max}$  au polygone doit être strictement inférieure à l'angle de balayage d'une facette du polygone, soit

$$\Delta\theta_2 \leq \theta = \frac{360^\circ}{n}. \quad (3.5)$$

Dans notre cas, le polygone (DT-36-250-025/01B/SA34, *Lincoln Laser*, Phoenix, É.-U.) compte 36 facettes.  $\Delta\theta_2$  doit donc être inférieur à  $10^\circ$  pour que toute la bande spectrale du milieu de gain soit utilisée lors du balayage spectral.

De plus, pour obtenir le cycle de travail (*duty cycle*) le plus élevé possible, il importe de maximiser  $\Delta\theta_2$  sans dépasser la condition présentée à l'équation 3.5. Un cycle de travail de 100 % correspond donc à une acquisition sans temps mort. Ainsi, pour la source à 1300 nm, on doit avoir un télescope avec un rapport  $\frac{f_1}{f_2} \leq 2/3$  selon l'équation 3.4. Un télescope constitué de deux lentilles  $f_1 = 50$  mm (AC254-050-C, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) et  $f_2 = 75$  mm (AC254-075-C, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) remplit cette exigence. Pour ce qui est de la source à 780 nm, il faut plutôt augmenter l'angle entre les deux longueurs d'onde extrêmes après le télescope pour obtenir le cycle de travail le plus élevé. Un rapport  $\frac{f_1}{f_2} = 22/9$  serait donc idéal. Toutefois, il est difficile de trouver une combinaison de lentilles commerciales donnant ce rapport. Deux lentilles  $f_1 = 150$  mm (AC254-150-B, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) et  $f_2 = 75$  mm (AC254-075-B, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) furent choisies, ce qui mène à un rapport  $\frac{\theta_2}{\theta_1} = 2$  où  $\theta_2 = 9^\circ$ . Ce faisant, chaque facette du polygone n'est utilisée qu'à 90 % du temps, résultant en un cycle de travail théorique de 90 %.

Un autre facteur dont il faut tenir compte dans la conception du télescope est l'angle d'acceptance  $\Delta\beta$  de la première lentille, donné par

$$\Delta\beta = \frac{1}{f_1} \left[ D_1 - W \frac{\cos b_0}{\cos a} \right], \quad (3.6)$$

où  $D_1$  est le diamètre de la lentille,  $b_0$  est l'angle de diffraction de la longueur d'onde centrale et  $W$  est la taille du faisceau à la sortie du collimateur.[19] Dans le cas de la source centrée à  $\lambda_0 = 1300$  nm, on a  $D_1 = 25$  mm,  $b_0 = 66,5^\circ$  et  $W = 2$  mm. On obtient donc  $\Delta\beta = 27,5^\circ$ , ce qui est largement supérieur à  $\Delta\theta_1$ . La première lentille a donc un diamètre suffisant pour collecter toutes les longueurs d'onde diffractées après le réseau, sans quoi l'accordabilité du filtre spectral aurait été limitée. En effet, l'accordabilité spectrale maximale issue du filtre spectral, donnée par

$$\Delta\lambda_{max} = \frac{\cos b_0}{g} \Delta\beta, \quad (3.7)$$



est de 160 nm, ce qui est largement au-dessus des spécifications du milieu de gain limité à une bande spectrale de 80 nm.

Un dernier facteur à considérer dans la conception du télescope est l'intervalle spectral libre (*free spectral range* ou FSR) du filtre, soit la séparation spectrale minimale entre deux longueurs d'onde pouvant être amplifiées en même temps dans la cavité. Cette situation survient lorsque deux faisceaux de longueurs d'onde différentes sont au même instant normaux à deux facettes différentes du polygone, tel qu'illustré à la figure 3.11. Si tel est le cas, des problèmes en imagerie encodée spectralement pourraient survenir. En effet, si un réseau de diffraction permet l'encodage de chaque point d'une ligne sur un échantillon par une longueur d'onde différente, deux points différents pourraient être illuminés simultanément par deux longueurs d'onde différentes. La détection étant basée sur un détecteur à point unique et non pas sur un spectromètre, chaque point dans une ligne va être encodé par un moment de détection différent durant le balayage spectral. Si deux points sont illuminés simultanément, la détection les confondra comme ne venant que d'un point, ce qui peut dédoubler l'image.

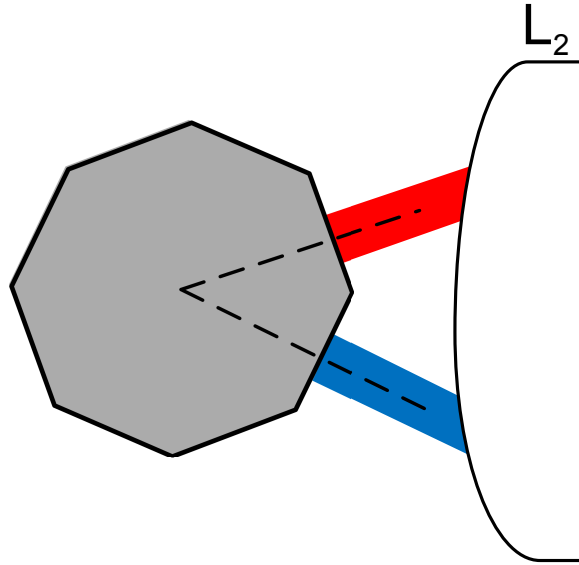


FIGURE 3.11 Position du polygone permettant à deux longueurs d'onde d'être amplifiées simultanément.

Dans le cas de la source à 1 300 nm, l'intervalle spectral libre,[10] donné par

$$FSR = \frac{\cos b_0}{g} \frac{f_2}{f_1} \theta, \quad (3.8)$$

est de 86 nm, ce qui est plus grand que la largeur spectrale du BOA. Il n'y a donc pas de risque que deux longueurs d'onde soient amplifiées au même instant.

Le tableau suivant synthétise les différentes données issues de la conception du filtre spectral pour la source centrée à 1 300 nm et présente celles de la source à 780 nm. On voit que tout comme pour la source centrée à 1 300 nm, l'intervalle spectral libre est plus grand que la plage de fonctionnement du milieu de gain. En outre, l'accordabilité spectrale maximale du filtre étant plus grande que la plage de fonctionnement du milieu de gain, le filtre n'est donc pas le facteur limitant l'accordabilité.

TABLEAU 3.3 Caractéristiques des filtres spectraux employés

	Symbole	Unité	780 nm	1300 nm
Focale de $L_1$	$f_1$	mm	150	50
Focale de $L_2$	$f_2$	mm	75	75
Grossissement angulaire			2	1/2
Fréquence du réseau	$g$	traits/mm	1800	1200
Angle d'incidence sur le réseau	$a$	degré	55	40
Angle de diffraction à $\lambda_0$	$b_0$	degré	35,8	66,5
Divergence au réseau	$\Delta\theta_1$	degré	4,5	15
Convergence au polygone	$\Delta\theta_2$	degré	9	10
Cycle de travail		%	90	100
Acceptance angulaire de $L_1$	$\Delta\beta$	degré	8,5	27,5
Accordabilité maximale du filtre	$\Delta\lambda_{max}$	nm	47	160
Intervalle spectral libre	FSR	nm	41	86

### 3.3.2 Assemblage du déclencheur

Tel que mentionné dans la section précédente, les systèmes d'imagerie encodée spectralement basés sur une source laser accordable ont un système de détection basé sur un détecteur à point unique. Il faut donc trouver un moyen de corrélérer l'information acquise à chaque instant par le détecteur à point unique à la longueur d'onde correspondante.

Pour ce faire, on fabrique un système de déclenchement donnant une impulsion à chaque fois que la source est centrée sur la longueur d'onde minimale  $\lambda_{min}$ . Ainsi, en connaissant la vitesse de rotation du polygone et donc l'intervalle temporel durant lequel est effectué un balayage spectral, on programme le système pour acquérir un certain nombre de points dans cet intervalle. Le système d'acquisition reste ensuite au repos jusqu'à l'apparition d'une deuxième impulsion du déclencheur. Par simple interpolation, on peut donc corrélérer l'information temporelle à l'information spectrale encodant chaque position dans l'échantillon.

La figure 3.12 présente le fonctionnement du déclencheur, qui consiste essentiellement en une version statique du filtre accordable. À la sortie de la source centrée à 1 300 nm, on rajoute

un coupleur  $CPL_2$  avec un ratio de sortie  $c : b = 90 : 10$ . La branche de sortie  $c$  devient alors la sortie du laser, alors que la branche  $b$  se dirige vers un circulateur, dont la branche 2 est reliée à un réseau de diffraction suivi d'un miroir en configuration Metcalf-Littman.[50]

Le miroir est donc fixé de manière à ce que seule  $\lambda_{min}$  revienne dans le circulateur et se dirige vers un détecteur relié au système d'acquisition. Le détecteur transmettra donc un signal seulement au moment où le polygone est placé de manière à amplifier  $\lambda_{min}$  pour la source centrée à 1300 nm. Il n'est pas nécessaire d'avoir un déclencheur pour la source à 780 nm puisque les deux sources sont simultanées et peuvent utiliser le même déclencheur.

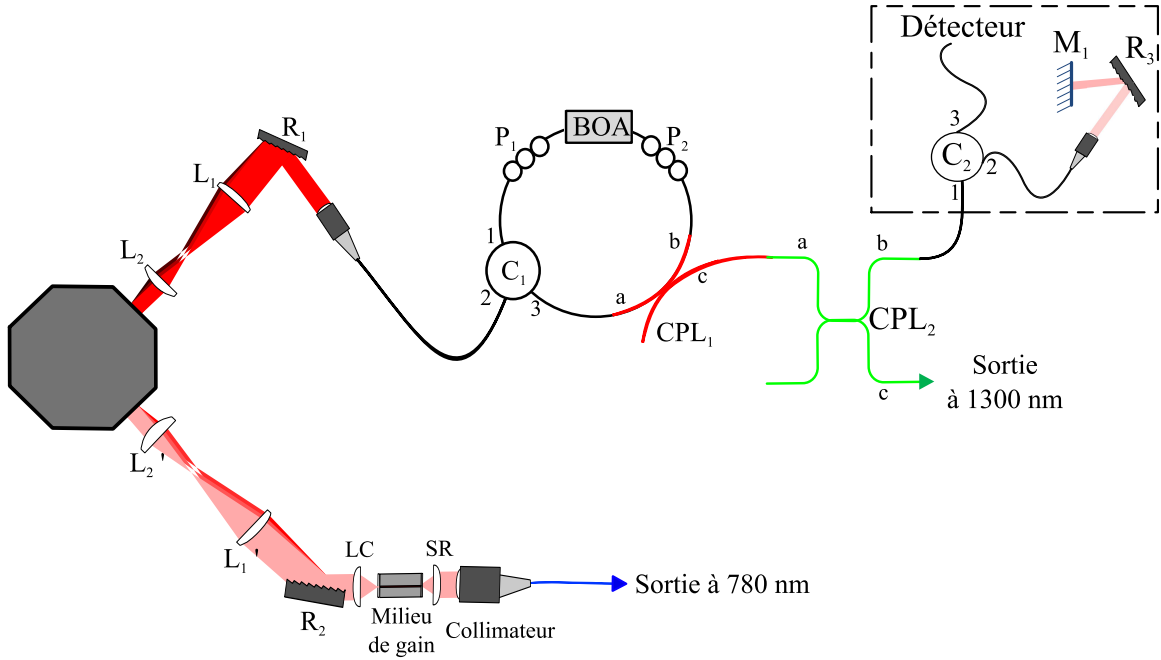


FIGURE 3.12 Schéma d'une source laser à balayage spectral double-bande simultanée munie d'un déclencheur d'acquisition. Dans la cavité circulaire à 1300 nm,  $C_1$  est un circulateur,  $P_1$  et  $P_2$  sont des contrôleurs de polarisation,  $CPL_1$  est un coupleur,  $L_1$  et  $L_2$  sont les deux lentilles du télescope et  $R_1$  est un réseau de diffraction. Dans la cavité linéaire à 780 nm,  $SR$  est une surface réfléchissante,  $LC$  est une lentille de collimation,  $L'_1$  et  $L'_2$  sont les deux lentilles du télescope et  $R_2$  est le réseau utilisé dans ce filtre spectral. Le coupleur  $CPL_2$  sert à la fois de coupleur de sortie et de relai vers le déclencheur, muni d'un circulateur  $C_3$ , d'un réseau de diffraction  $R_3$  et d'un miroir  $M_1$ .

### 3.4 Caractérisation de la source

Cette section présente les résultats des tests de caractérisation permettant d'évaluer le potentiel de la source en imagerie biomédicale. Ceci est nécessaire, car la résolution et la profondeur

de pénétration pour les différentes modalités sont directement reliées aux caractéristiques spectrales ainsi qu'à la puissance des sources employées.

Tout d'abord, la puissance de sortie dans chacune des bandes spectrales est liée au courant d'injection dans le milieu de gain utilisé tel que présenté à la figure 3.13. On remarque que la puissance maximale de la source à 780 nm est beaucoup plus élevée que celle de la source à 1300 nm. En effet, une puissance de sortie maximale de 117 mW a été atteinte à 780 nm par rapport à 17 mW à 1300 nm. Sur la figure, on n'affiche toutefois pas la puissance maximale à la sortie de la source centrée à 780 nm, mais plutôt la puissance de sortie ayant pu être injectée dans une fibre optique. Un couplage maximal de 46 % a pu être réalisé, ce qui donne une puissance de sortie fibrée de 54 mW.[51] L'astigmatisme du faisceau est responsable du faible taux de couplage et a été partiellement compensé par des lentilles cylindriques. Pour ce qui est de la source à 1300 nm, une puissance de sortie de 30 mW a été atteinte sur un montage parallèle après avoir réduit la taille de la cavité au maximum et diminué les pertes en fusionnant les différents composants fibrés. Dans le cas de la source double-bande, des connecteurs furent utilisés pour joindre les différents composants fibrés industriels afin de pouvoir détacher et déplacer le BOA dans différentes cavités utilisant par exemple un filtre Fabry-Pérot comme filtre spectral.[52]

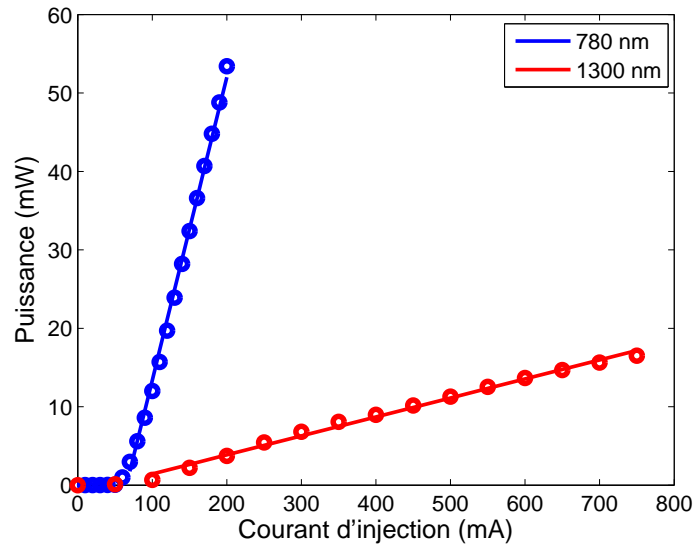


FIGURE 3.13 Puissance de sortie en fonction du courant d'injection dans les milieux de gain pour une vitesse du polygone de 12 000 facettes/s (correspondant à 12 000 spectres/s).

Le seuil laser permettant de compenser les pertes se trouve à un courant d'injection d'environ 50 mA pour les deux sources, après quoi la puissance est linéaire en fonction du courant d'injection. Toutes les longueurs d'onde ne sont toutefois pas amplifiées à ce courant. En effet,

le courant d'injection seuil n'est pas le même pour toutes les longueurs d'onde, compte tenu de l'efficacité différente des circulateurs, des coupleurs et des réseaux à chaque longueur d'onde. De plus, le gain des milieux d'amplification est également différent d'une longueur d'onde à l'autre. À la figure 3.14, on voit qu'en augmentant graduellement le courant d'injection, la plage spectrale effective de balayage augmente également, car le gain du milieu amplificateur parvient à compenser les pertes dans la cavité pour de plus en plus de longueurs d'onde.

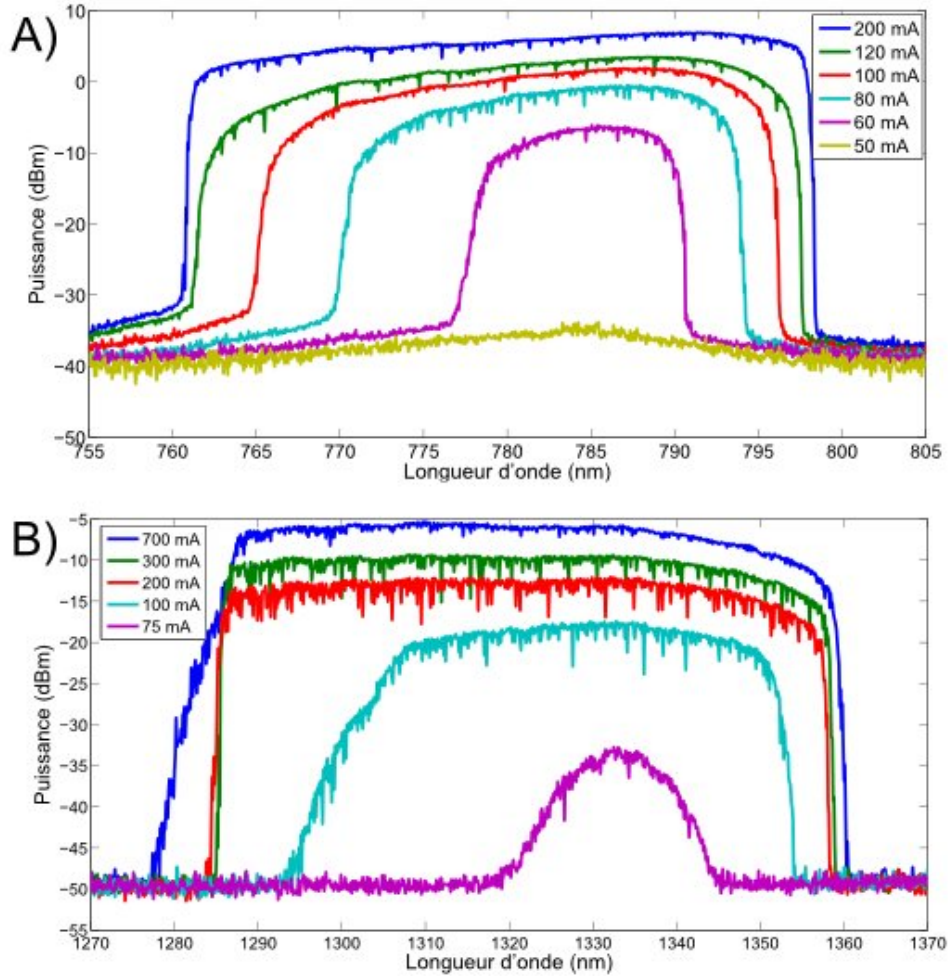


FIGURE 3.14 Puissance en fonction de la longueur d'onde à une vitesse de 12 000 facettes/s pour différents courants d'injection dans les milieux de gain à 780 nm (A) et 1300 nm (B).

Sur la figure, on remarque que les gammes spectrales d'accordabilité  $\Delta\lambda$  expérimentales sont légèrement inférieures à celles attendues par la théorie (voir tableau 3.4). Ceci peut être dû aux aberrations liées aux lentilles dans les télescopes. L'aberration de coma fait par exemple en sorte que les longueurs d'onde dirigées sur les bords des lentilles ne convergent pas toutes au même point sur le plan focal, ce qui crée de la distorsion à la sortie du télescope. On obtient

tout de même des gammes spectrales d'accordabilité satisfaisantes dans les deux bandes spectrales. La principale différence avec la théorie se situe plutôt au niveau du déplacement de la gamme d'accordabilité vers les grandes longueurs d'onde pour la source centrée à 1 300 nm. On s'attendait à avoir une longueur d'onde centrale  $\lambda_0 = 1\,300\text{ nm}$ , mais on a plutôt obtenu  $\lambda_0 = 1\,323\text{ nm}$ . Ceci peut être expliqué par le processus de fabrication des BOAs qui induit une certaine variabilité d'un composant à l'autre.

TABLEAU 3.4 Réponse spectrale des sources

	Unité	780 nm		1300nm	
		Théorie	Expérience	Théorie	Expérience
$\lambda_{min}$	nm	760	761	1260	1285
$\lambda_{max}$	nm	800	798	1340	1365
$\lambda_0$	nm	780	780	1300	1323
$\Delta\lambda$	nm	40	37	80	75

Les mesures prises précédemment l'ont été à une vitesse du polygone équivalente à 12 000 facettes par seconde. La vitesse du polygone influence largement la puissance de sortie dans les deux bandes tel que mesuré à la figure 3.15. En effet, plus le polygone tourne vite, moins il y a de passages pour une même longueur d'onde dans la cavité (et dans le milieu de gain), et donc moins la puissance de sortie est élevée.

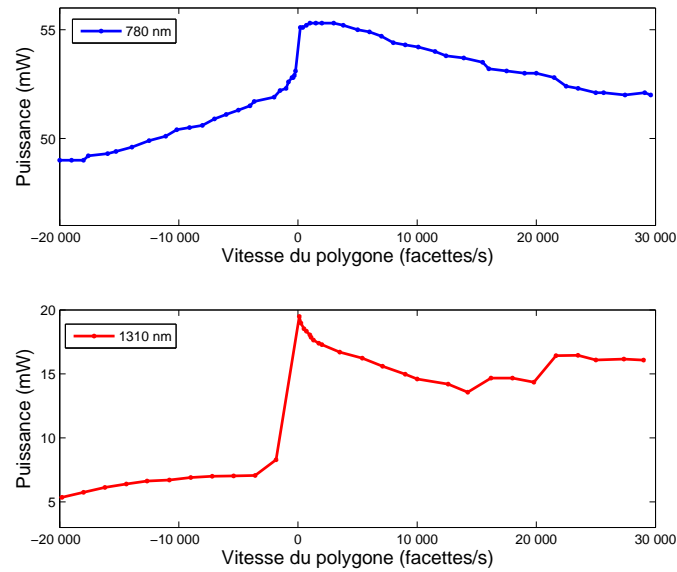


FIGURE 3.15 Puissance de sortie en fonction de la vitesse de rotation du polygone (en facettes/s).

On remarque aussi que les résultats ne sont pas symétriques si l'on tourne le polygone dans un sens ou dans l'autre. Ainsi, en changeant le sens de rotation du polygone, on change aussi le sens dans lequel les longueurs d'onde sont amplifiées. Pour des vitesses positives du polygone, on amplifie des faibles longueurs d'onde aux longueurs d'onde élevées, tandis que pour des vitesses négatives, on amplifie des longueurs d'onde élevées aux longueurs d'onde faibles. Ce changement induit dans le BOA un décalage du spectre d'amplification. L'effet est aussi présent pour le laser à 780 nm basé sur une diode en espace libre. Une explication proposée par Bilenca et al. stipule que des nonlinéarités dans les milieux de gain, tels qu'un mélange à quatre ondes asymétrique spectralement, favorisent l'amplification des longueurs d'onde décalées vers le rouge par rapport à la longueur d'onde d'excitation.[22]

Une autre explication proviendrait de l'ordre de relaxation des porteurs de charge dans les milieux de gain employés. Ainsi, pour un sens de rotation positif du polygone, la relaxation des porteurs de plus haute énergie dans la bande de conduction s'effectue avant celle des porteurs de plus faible énergie. Dans le sens opposé de rotation du polygone, la relaxation des porteurs de plus faible énergie s'effectue en premier, ce qui permet la désexcitation des porteurs de plus haute énergie à un niveau d'énergie inférieur avant leur relaxation. Ce faisant, la cavité laser est moins efficace.

Le fait que le spectre résultant soit décalé de quelques nanomètres selon qu'on tourne le polygone dans un sens ou dans l'autre induit aussi un changement dans le positionnement de la gamme spectrale sur les lentilles du télescope. En décalant le spectre de quelques nanomètres, il n'est plus centré sur les lentilles, augmentant l'aberration de coma et diminuant par le fait même la puissance de sortie.

Afin de vérifier que les deux bandes spectrales sont balayées simultanément, une mesure simultanée du balayage temporel a été effectuée (voir figure 3.16). Outre le fait que les deux bandes spectrales soient bel et bien superposées, on remarque sur la figure que le cycle de travail de la source centrée à 780 nm n'est pas de 100 %, mais de 90 %, tel que prédit lors du choix du télescope.

On remarque aussi un bruit à haute fréquence dans la source centrée à 780 nm pouvant être problématique en OCT, ce qui sera discuté dans le chapitre suivant. Puisque la fréquence de ce bruit varie proportionnellement avec la vitesse du polygone, on peut présumer qu'une cavité parasite se forme à même la cavité principale. Cela pourrait être dû à la réflexion sur les lentilles ayant une couche anti-réflexion moins efficace. En changeant la position des lentilles, la fréquence du bruit change également, ce qui tend à confirmer cette hypothèse. En outre, en plaçant les lentilles légèrement à angle de manière à ce que les réflexions parasites

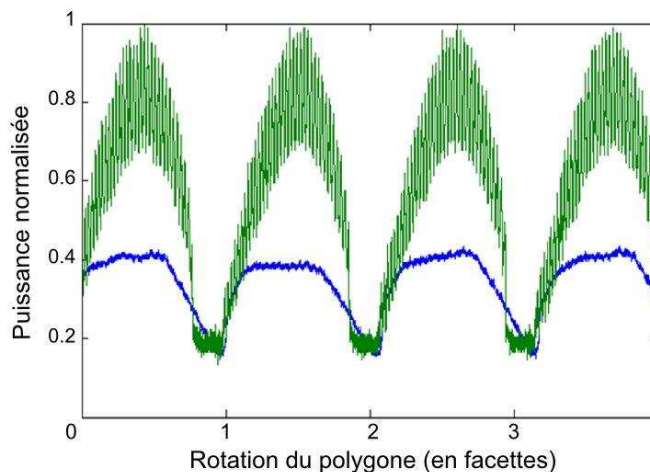


FIGURE 3.16 Puissance de sortie en fonction de la rotation du polygone (en facettes).

ne reviennent plus sur elles-mêmes, le bruit à haute fréquence a pu être éliminé pour une partie du spectre, mais au détriment de la puissance de sortie du laser.

Un autre effet visible sur le graphique de la figure 3.17 est l'apparition d'une modulation de la puissance de sortie dans les deux bandes spectrales, dont la fréquence correspond à un tour du polygone, soit 36 balayages spectraux (le polygone compte 36 facettes). Cela est dû au fait que le polygone oscille autour de son axe tout en tournant, ce qui fait en sorte que le couplage dans le collimateur n'est pas aussi efficace d'une facette à l'autre. Cette variation étant à faible fréquence, l'information venant d'un balayage spectral unique n'est pas affectée. De plus, puisque la variation de l'intensité est faible (de l'ordre de 3,5 % du signal crête à crête), les images résultantes ne sont que très légèrement affectées par cette modulation d'intensité.

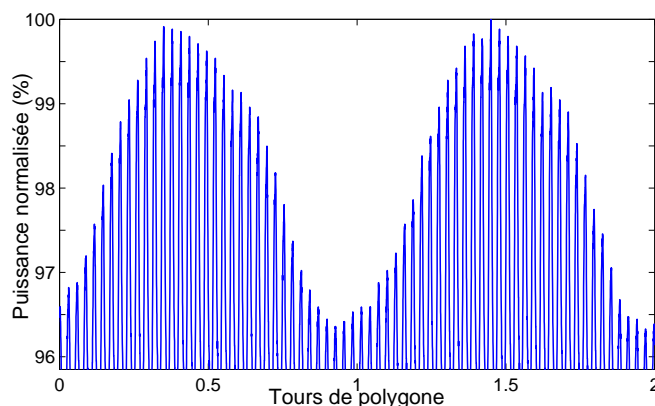


FIGURE 3.17 Variation de la puissance de sortie sur plusieurs tours du polygone.



Outre la puissance de la source dans les deux bandes spectrales en fonction du temps, la vitesse du polygone et le courant d'injection, d'autres métriques sont nécessaires pour vérifier le potentiel de la source en imagerie biomédicale. La largeur spectrale instantanée est une de ces métriques et est liée à la résolution en imagerie encodée spectralement. En effet, cette dernière est proportionnelle au champ de vue divisé par le nombre de points utilisés dans l'échantillonnage. Peu importe le nombre de points utilisés, la résolution ne pourra dépasser celle obtenue à l'aide du nombre de points résolubles  $N$  donné par

$$N = \frac{\Delta\lambda}{\delta\lambda}, \quad (3.9)$$

où  $\delta\lambda$  est la largeur spectrale instantanée, soit la mince gamme de longueurs d'onde revenant sur elle-même à une position donnée du polygone. Pour un filtre basé sur un double passage dans un réseau,  $\delta\lambda$  est donné par

$$\delta\lambda_{th} = \frac{\sqrt{4 \ln 2}}{\pi} \frac{\cos a}{gmW} \lambda_0. [19] \quad (3.10)$$

Une valeur expérimentale de  $\delta\lambda$  peut être dérivée à partir de la longueur de cohérence  $l_c$  mesurée avec un interféromètre de Michelson, soit

$$\delta\lambda_{th} = \frac{\sqrt{4 \ln 2}}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{l_c}, \quad (3.11)$$

où la longueur de cohérence est égale à la largeur à mi-hauteur de l'interférogramme.[53] Les résultats sont présentés au tableau 3.5.

TABLEAU 3.5 Largeurs instantanées ( $\delta\lambda$ ), nombre de points résolubles ( $N$ ) et longueur de cohérence ( $l_c$ ) de la source en fonction de la vitesse de rotation du polygone (en facettes/s)

	Unité	780 nm		1300nm	
Vitesse de rotation du polygone	facettes/s	6 000	12 000	6 000	12 000
$\delta\lambda_{th}$	pm	110	110	135	135
$N_{th}$		364	364	593	593
$l_c$	mm	16	11	8	7,2
$\delta\lambda_{exp}$	pm	17	24	116	128
$N_{exp}$		2176	1542	647	586

On remarque que les valeurs expérimentales de  $\delta\lambda_{exp}$  sont meilleures que celles prédites par la théorie pour les deux gammes spectrales. Ceci peut être expliqué simplement par le fait que la théorie ne tient pas compte des passages multiples dans le filtre spectral raffinant à chaque passage la finesse du laser. De manière similaire, cela explique pourquoi  $\delta\lambda_{exp}$  augmente si

on accélère le polygone ; il y a moins de passages dans la cavité pour chaque gamme de longueurs d'onde quand le polygone tourne plus vite. De plus, si on compare le nombre de points résolubles dans les deux bandes spectrales, on voit bien l'effet d'amélioration de la résolution à faible longueur d'onde.

Il serait possible d'effectuer d'autres mesures pour mieux caractériser le potentiel de la source double-bande en imagerie biomédicale. Certaines de ces mesures seront d'ailleurs présentées dans le chapitre qui suit, décrivant un système d'imagerie multimodale basé sur la source.

## CHAPITRE 4

### OCT DEUX COULEURS

Ce chapitre décrit la conception d'un système OCT deux couleurs basé sur le laser à balayage spectral double-bande décrit au chapitre précédent. Après une explication de l'assemblage du système d'imagerie seront présentés les principaux résultats obtenus afin de le caractériser.

#### 4.1 Description du système d'imagerie OCT deux couleurs

Le système conçu est illustré à la figure 4.1 et est composé de deux sous-systèmes OCT : un centré à 780 nm et un centré à 1 300 nm. Un multiplexeur/démultiplexeur (voir section 4.2.4) est employé pour combiner les bras d'échantillon des deux sous-systèmes.

Le sous-système à 1 300 nm ressemble en tous points à un SS-OCT comme décrit dans la section 2.1.2. Un interféromètre en fibre SMF-28 (unimodale à 1 300 nm) a été conçu de façon à balancer les longueurs des bras d'échantillon et de référence. Deux coupleurs sont utilisés dans cet interféromètre. Un coupleur  $FC_1$  envoie 90 % de la puissance vers le bras d'échantillon et seulement 10 % vers le bras de référence. Ce ratio permet d'optimiser la visibilité de l'interférence qui est maximale quand l'intensité réfléchiée par les deux bras est identique. Un échantillon biologique étant beaucoup moins réfléchissant que le miroir placé dans le bras de référence, la majorité de la lumière doit être envoyée vers le bras d'échantillon pour maximiser la visibilité des franges d'interférence. Un atténuateur variable  $AV$  a également été placé dans le bras de référence pour pouvoir mieux ajuster la visibilité du signal interférométrique. Les deux branches de sortie du coupleur  $FC_1$  sont ensuite connectées à deux circulateurs dont les sorties sont recombinaées à l'aide d'un coupleur  $FC_2$  ayant un ratio 50 : 50 afin de permettre la détection balancée.

Contrairement au sous-système à 1 300 nm, le sous-système à 780 nm n'utilise pas la détection balancée. Ceci est dû à l'absence de circulateurs de Faraday de qualité centrés à cette longueur d'onde. L'interféromètre est donc simplement composé d'un coupleur  $FC_3$  ayant un ratio 50 : 50 en fibre unimodale à 780 nm (HP-780, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) pour diviser la lumière en un bras d'échantillon et de référence. Il est contre-productif d'utiliser un autre ratio que celui-ci. En effet, en utilisant le même coupleur à l'aller et au retour, si on augmente la puissance transmise au bras d'échantillon, on diminue le taux de couplage dans la branche

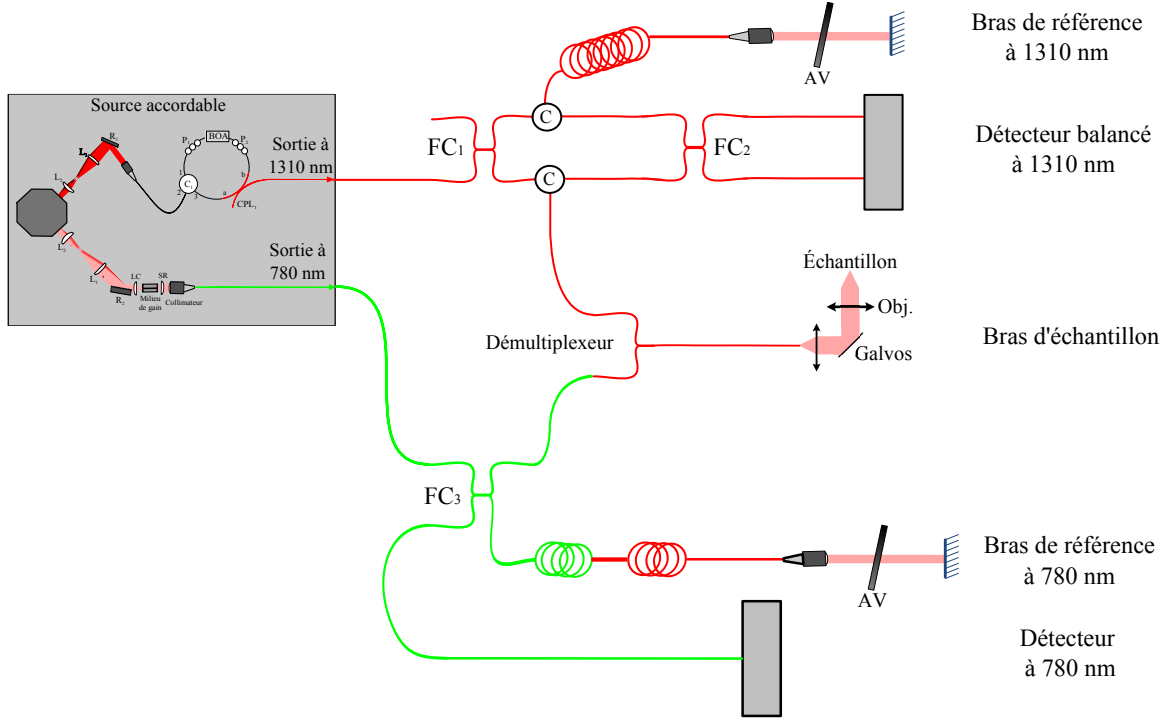


FIGURE 4.1 Schéma d'un système OCT deux couleurs à 780 nm et 1300 nm. La fibre optique unimodale à 780 nm (HP-780) est dessinée en vert et celle à 1300 nm (SMF-28) est dessinée en rouge. Les enroulements représentent les endroits où de la fibre a été rajoutée dans les bras de référence pour compenser la dispersion.  $FC_1$ ,  $FC_2$  et  $FC_3$  sont des coupleurs, tandis que  $AV$  est un atténuateur variable.

de détection au retour. Le même coupleur est ensuite réutilisé pour recombinaison la lumière provenant des deux bras vers un détecteur à point unique. La configuration choisie ne permet donc pas la détection balancée, ce qui mène à une diminution du rapport signal sur bruit (voir section 4.2.6).

Une autre différence entre les sous-systèmes à 780 nm et 1300 nm est la présence de deux types de fibre (illustrées par deux couleurs différentes à la figure 4.1) dans l'OCT à 780 nm. En effet, le multiplexeur permettant la combinaison des bras d'échantillon des deux sous-systèmes est fabriqué en SMF-28 qui est multimodale à 780 nm. Cela affectera également la qualité des images, car chacun des modes illuminant l'échantillon contribuera à un interférogramme décalé par rapport à ceux des autres modes (voir section 4.2.5).

Après le multiplexeur combinant les deux bras d'échantillon des sous-systèmes, une lentille de collimation identifiée par  $LC$  (A230, Thorlabs, New Jersey, É.-U.) a été utilisée pour collimer le faisceau. Des miroirs galvanométriques balaient ensuite le faisceau en  $x$  et en  $y$  sur l'échantillon, ce qui permet d'obtenir une image en trois dimensions. Une lentille objectif

(A220, Thorlabs, New Jersey, É.-U.) dont la focale objet est située entre les deux galvanomètres permet de redresser le balayage angulaire à leur sortie par un balayage perpendiculaire à la surface de l'échantillon. Les deux lentilles ont été choisies de manière à augmenter la longueur de Rayleigh du faisceau au niveau de l'échantillon. Cela permet d'obtenir la plus grande profondeur de pénétration possible, car le faisceau reste focalisé sur une plus grande distance. Toutefois, les deux lentilles ne sont pas parfaitement achromatiques, ce qui induit un décalage entre les positions en profondeur où les deux bandes spectrales vont être focalisées dans l'échantillon (voir section 4.2.2).

## 4.2 Caractérisation du système OCT deux couleurs

### 4.2.1 Mesure des résolutions axiale et latérale

Les premiers tests de caractérisation du système furent des tests permettant de mesurer les résolutions axiale et latérale afin de les comparer avec la théorie.

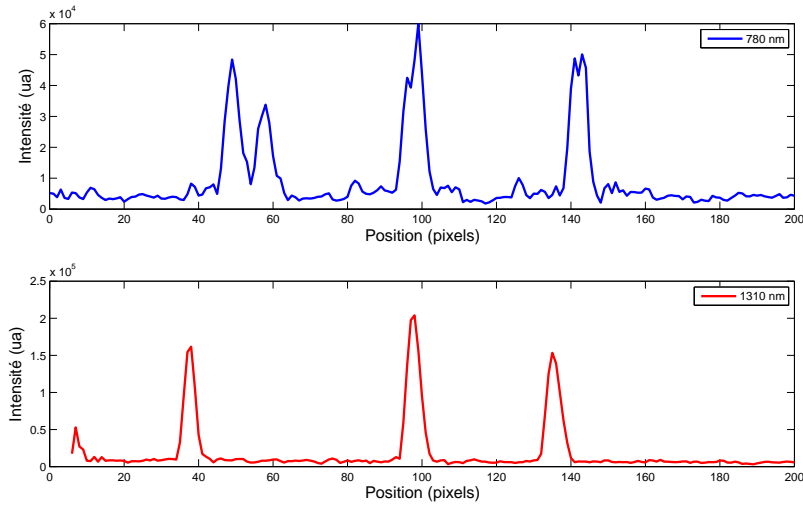


FIGURE 4.2 Lignes-A (intensité en fonction de la profondeur exprimée en pixels) obtenues de l'imagerie d'une lamelle de verre avec le système OCT deux couleurs.

Pour mesurer la résolution axiale, une lamelle de verre d'épaisseur égale à  $135\ \mu\text{m}$  a été imagée à l'aide du système. Le résultat est présenté à la figure 4.2, sur laquelle on retrouve deux pics correspondant respectivement aux interfaces air-verre et verre-air pour chacune des bandes spectrales (le premier pic dans chaque sous-figure résulte de l'interférence entre une réflexion multiple entre les deux surfaces de la lamelle et le miroir du bras de référence).

On peut calibrer la taille réelle de chaque pixel dans l'image en mesurant le nombre de pixels entre les sommets des deux pics et en sachant que cela correspond à l'épaisseur de la lame multipliée par son indice de réfraction. Puisque la lamelle est fabriquée en BK-7, son indice de réfraction est de 1,5118 à 780 nm et de 1,5037 à 1300 nm.[54] On obtient que chaque pixel mesure  $4,6 \mu\text{m}$  à 780 nm et  $5,5 \mu\text{m}$  à 1300 nm. Après cette calibration, on trouve le nombre de pixels correspondant à la largeur à mi-hauteur d'un pic pour retrouver la résolution axiale dans chacune des bandes spectrales. Les résultats sont présentés au tableau 4.1 et sont comparés avec les valeurs théoriques obtenues à l'aide de l'équation 2.11 et des valeurs retrouvées au tableau 3.4.

TABLEAU 4.1 Résolutions axiale et latérale obtenues avec le système OCT

	Unité	780 nm		1300 nm	
		Théorie	Expérience	Théorie	Expérience
$r_{ax}$	$\mu\text{m}$	7,3	39,4	10,3	25,8
$r_{lat}$	$\mu\text{m}$	1,5	1,7	3,0	4,0

On remarque une différence entre les valeurs expérimentales et la théorie. Ceci est entre autres dû au fait que la résolution axiale théorique a été calculée en fonction d'une source ayant un spectre gaussien, ce qui n'est pas le cas. Toutefois, la principale différence entre les résultats obtenus et la théorie provient plutôt de la dispersion produite par les différents matériaux optiques. De plus, pour le sous-système à 780 nm, devoir compenser deux fibres différentes dans le bras d'échantillon par exactement les mêmes longueurs de chacune d'entre elles dans le bras de référence est ardu. En effet, lorsque vient le temps de fusionner la SMF-28 et la HP-780 dans le bras de référence, il subsiste un jeu de quelques millimètres lors du clivage préalable à la fusion. Contrairement au sous-système à 1300 nm où cela n'est pas critique (la SMF-28 est près du zéro de dispersion à 1300 nm), la dispersion induite par la SMF-28 à 780 nm est élevée et un ou deux millimètres de différence entre les longueurs de cette fibre dans les deux bras peut grandement dégrader la résolution axiale.

La résolution latérale du système a été mesurée en imageant une cible de résolution (1951 USAF, *Edmund Optics*, New Jersey, É.-U.). Contrairement à la mesure de la résolution axiale où seule la prise de lignes-A était nécessaire, il a fallu prendre un volume tridimensionnel de la cible de résolution afin de mesurer la résolution latérale sur une reconstruction de sa surface. La figure 4.3 présente les reconstructions de la surface de la cible dans les deux bandes spectrales. Sur chacune de ces reconstructions, une paire de barres blanche et noire de l'élément 3 du groupe 4 de la cible a été isolée. Ensuite, un graphique de l'intensité sur une ligne parallèle à ces deux barres été tracée. Sachant que l'épaisseur d'une paire de barres blanche et noire de l'élément 3 du groupe 4 correspond à  $49,6 \mu\text{m}$  sur la cible, il est facile

d'effectuer la calibration permettant de déterminer la longueur de chaque pixel. La résolution latérale est ainsi donnée par la distance entre les pixels correspondant à 10 % et 90 % de l'intensité maximale sur la bordure d'une de ces barres. Les résultats sont présentés au tableau 4.1.

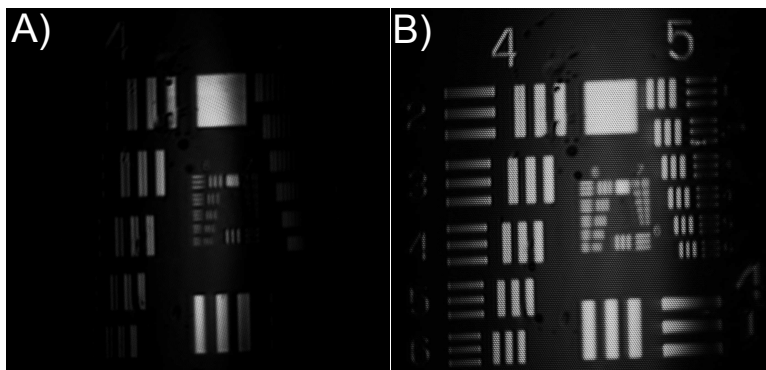


FIGURE 4.3 Images de la reconstruction de la surface d'une cible de résolution USAF 1951 prise à l'aide du système à 780 nm (A) et 1300 nm (B).

On voit que tout comme pour la résolution axiale, la résolution latérale mesurée est plus grande que la valeur attendue par la théorie. Ceci est possiblement dû aux aberrations de coma sur la lentille objectif. L'aberration de coma fait en sorte que les faisceaux dirigés sur les bords de la lentille ne convergent pas tous au même point sur le plan focal, ce qui élargit la largeur du point focal et donc la taille de la tache d'Airy pour chaque faisceau.

Le point focal de la lentille objectif est situé entre les deux galvanomètres. Cela résulte en une courbure du champ de vue en  $x$  et en  $y$ . Une surface plane comme la cible de résolution apparaîtra donc légèrement courbée. Il devient alors difficile de déterminer avec précision la résolution latérale, car cette courbure de champ influe sur l'intensité résultante d'une paire de barres à l'image. L'utilisation d'un télescope télécentrique permettrait de réduire cet effet, mais augmenterait considérablement l'aberration chromatique dans le système, tel qu'expliqué à la section suivante.

## 4.2.2 Caractérisation des aberrations chromatiques

La figure 4.4 décrit le décalage du point focal des lentilles en fonction de la longueur d'onde. Ainsi, on trouve une distance focale de 11,07 mm à 780 nm et de 11,22 mm à 1 300 nm pour la lentille A220 utilisée comme lentille objectif, tandis qu'on trouve une distance focale de 4,51 mm à 780 nm et de 4,61 mm à 1 300 nm pour la lentille A230 utilisée comme lentille de collimation  $LC$ .

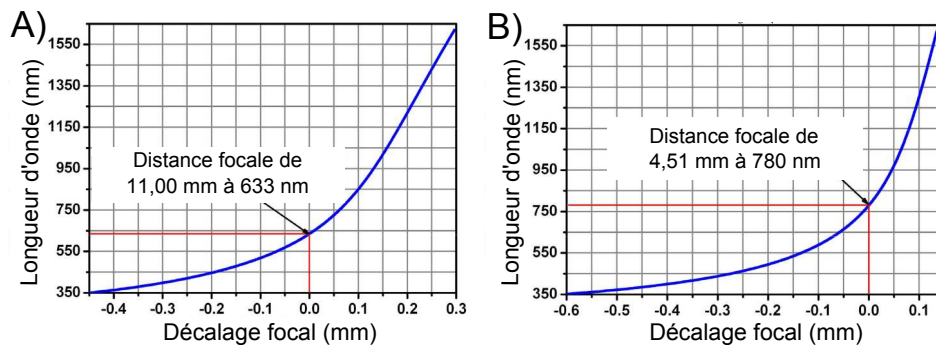


FIGURE 4.4 Décalage du point focal en fonction de la longueur d'onde pour les lentilles A220 (A) et A230 (B). Tiré de [www.thorlabs.com](http://www.thorlabs.com). Consulté le 15 avril 2013.

Afin de vérifier le décalage entre les points focaux dans les deux bandes spectrales, un miroir fut déplacé dans l'axe en profondeur du bras d'échantillon. Un graphique de l'intensité détectée dans chaque bande spectrale en fonction de la position du miroir fut ensuite tracé. Les résultats sont présentés à la figure 4.5. On voit que le faisceau focalise plus loin dans la bande spectrale centrée à 1300 nm ce qui est attendu étant donné que les distances focales augmentent avec la longueur d'onde sur la figure 4.4.

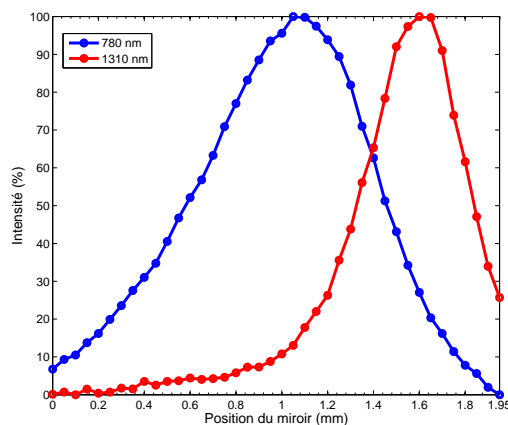


FIGURE 4.5 Décalage expérimental du point focal en fonction de la longueur d'onde dans le bras d'échantillon du système.

Pour des considérations pratiques, il a fallu ajuster les bras de référence dans les deux bandes spectrales pour que la différence de marche nulle corresponde à  $50\text{ }\mu\text{m}$  en amont du point focal à 780 nm. Ce faisant, on évite tout repliement dans les images obtenues en plaçant la surface de l'échantillon à cette position tout en maximisant la profondeur de pénétration par une utilisation maximale de la longueur de Rayleigh du faisceau dans les deux bandes spectrales.



### 4.2.3 Caractérisation des pertes de puissance dans l'imageur

La puissance recueillie au détecteur lorsqu'un miroir est placé dans le bras d'échantillon (voir figure 4.5) est relativement faible. Une caractérisation des pertes dans chacun des composants du système a donc été effectuée. La figure 4.6 présente les différents endroits où la puissance a été mesurée.

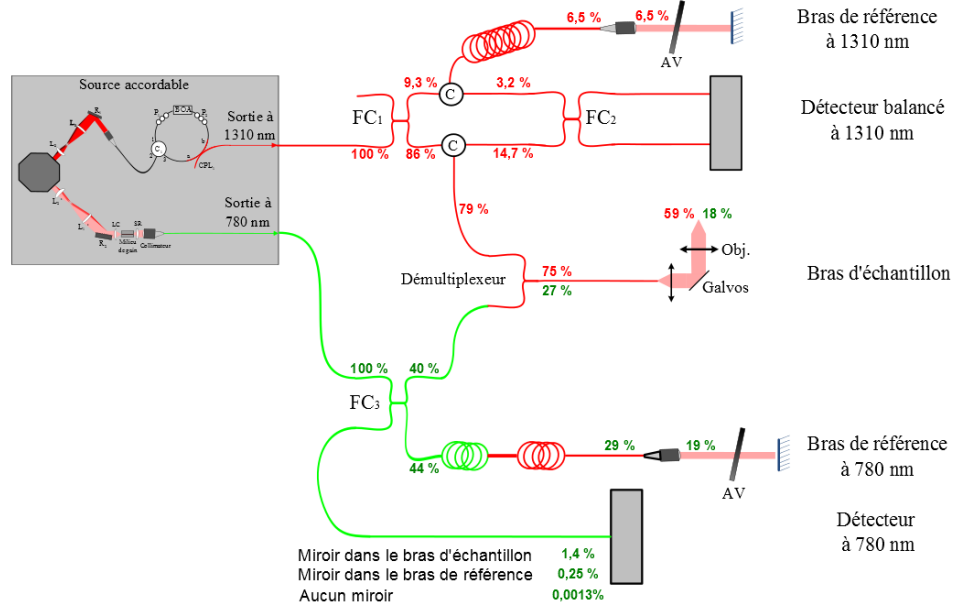


FIGURE 4.6 Endroits dans le montage où fut mesurée la puissance du signal par rapport à l'entrée de chacun des sous-systèmes OCT. Les pourcentages en rouge représentent les lectures à 1300 nm et les pourcentages en vert celles à 780 nm.

Une analyse des résultats obtenus s'impose. Débutons par l'analyse du sous-système à 1 300 nm. La lecture des puissances à la sortie du coupleur  $FC_1$  (FC1310-70-10-APC, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) correspond à la réponse attendue d'un coupleur 90 : 10. Les circulateurs  $C$  (CIR-1310-50-APC, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) satisfont également les spécifications fournies par le manufacturier, soit une perte maximale de 1,3 dB entre chaque branche. Ensuite, le démultiplexeur a une efficacité de 95 % à 1300 nm, ce qui est excellent.

On remarque toutefois que la puissance à 1 300 nm au niveau de l'échantillon n'est égale qu'à 79 % de la puissance de sortie du démultiplexeur. Ceci est dû au fait que la lentille de collimation dans le bras d'échantillon a une couche anti-reflet efficace entre 600 et 1 000 nm. Cette couche a été choisie pour minimiser l'auto-interférence du bras d'échantillon (voir figure

4.9) dans le système OCT à 780 nm sans détection balancée. Toutefois, l'utilisation d'une telle couche n'est pas idéale dans une autre plage de longueurs d'onde, car elle augmente la réflexion par rapport au 4 % de réflexion sur une surface non traitée.

Finalement, la puissance récoltée au détecteur lorsqu'un miroir est placé dans le bras d'échantillon est plus faible que la valeur attendue. Cela est dû au compromis fait dans la collimation des faisceaux à 780 nm et 1 300 nm à l'aide de  $LC$ . En effet, tel qu'illustré sur la figure 4.4, la lentille de collimation n'a pas la même focale pour les deux bandes spectrales. Il est donc difficile de recoupler toute la lumière réfléchie par le miroir dans  $LC$  au retour.

En analysant à présent les pertes de puissance dans le sous système à 780 nm, on remarque que le coupleur  $FC_3$  (FC780-50B-APC, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) n'a pas un ratio de 50 : 50. Cela n'est pas idéal, car un signal maximal sans détection balancée est obtenu pour un coupleur ayant ce ratio. Ensuite, le démultiplexeur a une efficacité de seulement 68 % à 780 nm. Ceci est expliqué par des pertes à l'insertion entre la fibre unimodale HP-780 du coupleur  $FC_3$  et la fibre multimodale SMF-28 du démultiplexeur. Des rétroréflexions surviendront à cet endroit et affecteront le signal interférométrique (voir section 4.2.6). La présence de rétroréflexions est d'ailleurs confirmée par la présence d'un signal parasite lorsqu'aucun miroir n'est placé dans les bras de référence et d'échantillon.

Afin de corriger ce problème, la fusion entre la fibre unimodale du coupleur et la fibre multimodale du démultiplexeur devrait être adiabatique. Dans ce cas, le mode fondamental s'ajuste au changement dans la structure du guide. Une façon de rendre la fusion adiabatique serait d'effiler la fibre SMF-28 avant de la fusionner à la fibre HP-780 dans les deux bras. Toutefois, cela rendrait beaucoup plus ardu la compensation de la dispersion.

#### 4.2.4 Caractérisation du multiplexeur/démultiplexeur

Comme montré à la section précédente, le multiplexeur/démultiplexeur permet d'injecter dans la même fibre deux signaux à des longueurs d'onde différentes à l'aller et de les séparer au retour. Sa fabrication repose sur un procédé de fusion-étirage durant lequel on ajuste la réponse sinusoïdale en longueur d'onde d'un coupleur par un contrôle des paramètres d'étirage. Il est à noter que le démultiplexeur est fait entièrement de fibre SMF-28 unimodale à 1 300 nm, mais multimodale à 780 nm.

Une fois le composant fabriqué par le *Laboratoire des Fibres Optiques* de l'École Polytechnique de Montréal, sa transmission en fonction de la longueur d'onde dans chacune des branches fut mesurée (voir figure 4.7). On voit sur la figure que le démultiplexeur n'est pas totalement

achromatique et influe donc sur la résolution, qui est meilleure pour un spectre gaussien. En effet, si la réponse du démultiplexeur avait été achromatique, le spectre aurait été semblable au spectre du laser retrouvé à la figure 3.14. La lumière devant passer dans le démultiplexeur à l'aller et au retour, l'efficacité de la détection à chaque longueur d'onde sera légèrement différente, et il faudra moduler le spectre de la source lors du traitement du signal.

On remarque sur le graphique A de la figure 4.7 que la transmission de la lumière provenant de la bande spectrale autour de 780 nm dans la branche à 780 nm est centrée autour de  $-2,5$  dB. On perd donc près de 50 % du signal à l'aller, mais aussi au retour. La puissance manquante n'est pas transférée dans la branche à 1300 nm, ce qui indique qu'il y a des pertes soit au coupleur lui-même, soit à la connexion entre la fibre HP-780 et la SMF-28 en amont du démultiplexeur.

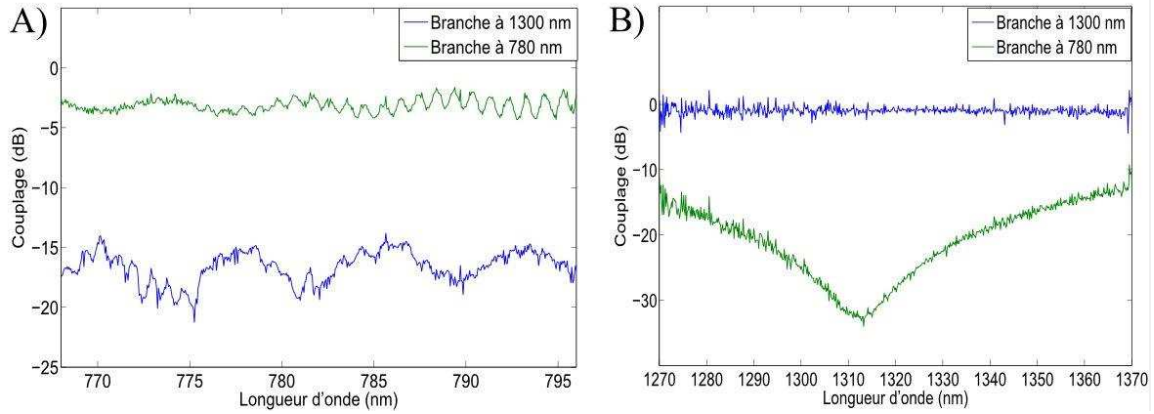


FIGURE 4.7 Transmission des deux branches du démultiplexeur autour de 780 nm (A) et 1300 nm (B). La courbe en vert présente la réponse de la branche à 780 nm du démultiplexeur, tandis que la courbe en bleu présente la réponse de la branche à 1300 nm du démultiplexeur.

#### 4.2.5 Effet de l'utilisation de fibres multimodales à 780 nm

L'utilisation d'un montage composé de deux types de fibre apporte également un autre problème lors de la reconstruction des images, soit l'apparition de fantômes dans les images prises avec le sous-système à 780 nm.[55] Ceci est dû à la présence de fibre SMF-28, qui est multimodale à 780 nm.

Ainsi, le nombre de modes possibles dans le sous-système à 780 nm est donné par le nombre de modes pouvant voyager dans la SMF-28 à 780 nm. Le calcul de la fréquence normalisée

$$V = \frac{2\pi a}{\lambda} \sqrt{n_c^2 - n_g^2}, \quad (4.1)$$

où  $n_c = 1,4589$  et  $n_g = 1,4537$  sont les indices de réfraction du cœur et de la gaine à  $\lambda = 780 \text{ nm}$  et  $a = 4,5 \mu\text{m}$  est le rayon du cœur,[56] permet de déterminer le nombre de modes voyageant dans la fibre. On trouve  $V = 4,5$ . 4 modes différents peuvent donc voyager dans la SMF-28 à 780 nm.

Chacun de ces modes a un indice de réfraction effectif différent dans la fibre multimodale, donné par

$$n_{eff} = n_c \sqrt{1 - 2\Delta \left[ \frac{a \sqrt{k^2 n_c^2 - \beta^2}}{V} \right]}, \quad (4.2)$$

où

$$\Delta = 0,5 \left[ 1 - \frac{n_g^2}{n_c^2} \right] \quad (4.3)$$

et où  $\beta$  est la constante de propagation du mode. La distance optique séparant deux modes dans la fibre est donc donnée par

$$\Delta L = n_{eff1} L_1 - n_{eff2} L_2, \quad (4.4)$$

où  $L_1$  et  $L_2$  sont les longueurs de fibre optique multimodale présente dans le chemin optique choisi. On va donc avoir une image fantôme se formant à la distance  $\Delta L$  du zéro de l'interféromètre pour différents cas :

1. Il peut y avoir de l'interférence entre le mode fondamental et les modes d'ordre supérieur dans le bras d'échantillon, qui apparaîtra à une distance  $\Delta L$  du zéro de l'interféromètre dans l'image où  $L_1 = L_2$  est la longueur de SMF-28 dans le bras d'échantillon. Le même effet survient également dans le bras de référence. Notons que ce ne sont pas directement les modes d'ordre supérieur qui interfèrent avec le mode fondamental puisqu'ils sont orthogonaux les uns des autres. Ce sont plutôt les recombinaisons possibles dans les coupleurs qui permettent ce type d'interférence. En effet, dans un coupleur, chacun des modes des guides individuels sont transférés dans une combinaison des différents supermodes de la structure. Ces supermodes sont ensuite retransférés avec une combinaison linéaire différente dans les modes fondamentaux des deux fibres de sortie. Ce faisant, il est possible qu'une partie d'un mode d'ordre supérieur soit transféré au mode fondamental à la sortie du coupleur.

2. L'auto-interférence provenant des réflexions multiples dans l'échantillon et aux connexions entre les fibres décrit à la figure 4.9 peut survenir pour tous les modes présents et va bruite l'image résultante.

Une manière facile de voir l'effet de la fibre multimodale dans les images résultantes est de comparer l'image standard d'une lame de verre à 780 nm à une image pour laquelle on a enroulé la fibre multimodale sur elle-même jusqu'au point où seul le mode fondamental est encore guidé. En effet, les modes d'ordre supérieur étant guidés moins fortement dans la fibre, ils fuient vers la gaine si le rayon de courbure de la fibre est assez élevé. Ainsi, comme illustré sur la figure 4.8, certaines lignes fantômes disparaissent. L'enroulement de fibre a donc été gardé dans le cas des sessions d'imagerie subséquentes pour s'affranchir au maximum de ces fantômes.

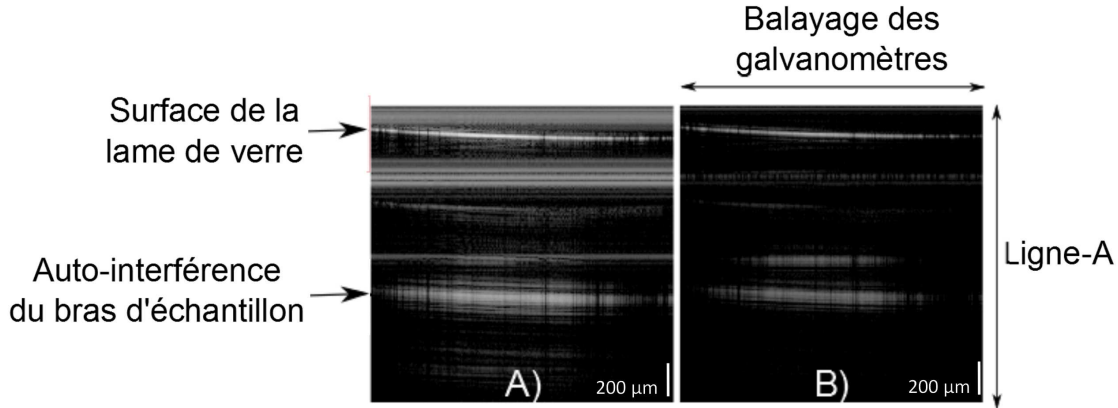


FIGURE 4.8 Comparaison des images OCT d'une lame de verre épaisse obtenues avec le système à 780 nm sans (A) et avec (B) enroulement de la fibre multimodale.

On remarque sur les images l'effet de la courbure de champ comme mentionné à la section 4.2.1. En effet, la surface de la lame de verre est légèrement recourbée sur les images, car le point focal de la lentille objectif n'est pas conjugué au galvanomètre utilisé pour balayer le faisceau sur l'échantillon.

#### 4.2.6 Effet de l'absence de détection balancée à 780 nm

Le rôle du démultiplexeur dans la détérioration du signal dans le sous-système à 780 nm a été mentionné à la section 4.2.4. Toutefois, d'autres problèmes peuvent être détectés sur les images obtenues par le système. Ainsi, si on débranche le bras de référence ou le bras d'échantillon, le signal obtenu au détecteur est le signal d'auto-interférence (voir figure 4.9).

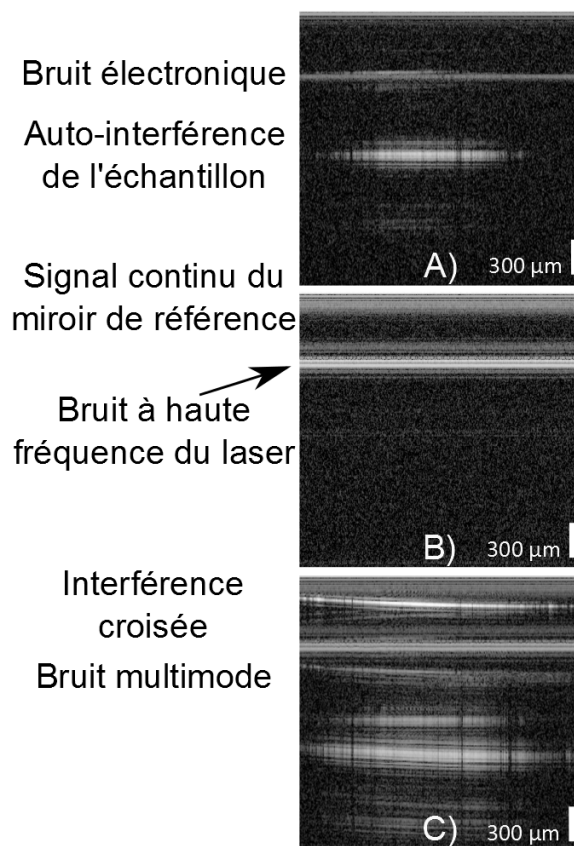


FIGURE 4.9 Signal OCT obtenu d'une lame de verre dans les cas où le bras d'échantillon (A), le bras de référence (B) et les deux bras sont branchés (C) dans le sous-système à 780 nm.

En effet, si l'échantillon est épais, les réflexions à différentes profondeurs peuvent interférer entre elles, rajoutant au bruit. Ces signaux vont venir s'additionner à l'interférence croisée des deux bras. Il est possible de les éliminer en post-traitement. Toutefois, puisque leur intensité est du même ordre de grandeur que le signal croisé dans le cas d'un échantillon biologique, il est difficile d'augmenter le gain du détecteur sans le faire saturer. Un détecteur balancé n'amplifiant que le signal croisé, un plus grand gain serait accessible si l'on s'affranchissait du signal parasite d'auto-interférence.[57]

Un autre effet non désiré est la présence de l'interférence provenant des rétroreflexions des connexions entre les fibres dans les deux bras. En effet, les fibres ne furent pas fusionnées à tous les endroits où il devait y avoir une jonction entre les différents composants fibrés, mais seulement connectorisées. Ceci a notamment permis de passer plus rapidement du système OCT deux couleurs à une autre configuration (OCT/SECM ou OCT/Fluo) en mettant bout à bout différentes longueurs de fibre dans les bras de référence correspondant aux longueurs

des composants rajoutés dans le bras d'échantillon. L'espacement entre les fibres dans les connecteurs restant fixe, cela va créer des fausses surfaces à des profondeurs fixes près du zéro de l'interféromètre dans l'image. Encore une fois, s'affranchir de ces rétroréflexions par une détection balancée permet de pouvoir augmenter le gain du détecteur.

Un autre effet remarqué par l'absence de détection balancée est la présence de l'interférence entre la lentille objectif et l'échantillon qui sont situés à l'intérieur de la zone de cohérence l'un de l'autre. Ainsi, plus on approche l'échantillon de la lentille objectif, plus ce signal parasite devient intense par rapport au signal obtenu par l'interférence croisée avec le bras de référence.

L'effet le plus important issu de l'absence de détection balancée est toutefois le bruit provenant du laser. En effet, il y a une variation de la puissance de la source d'une facette à l'autre, ce qui crée une fréquence parasite correspondant à la fréquence de balayage du polygone. Cette valeur est facile à éliminer dans l'image résultante puisqu'elle est constante, mais elle élimine aussi le signal OCT sous-jacent. De plus, le bruit à haute fréquence provenant des rétroréflexions dans les lentilles du télescope va aussi être présent dans l'interférogramme. Ce bruit est plus difficile à éliminer, car son contenu fréquentiel est étendu et cache le signal d'interférence croisé ayant les mêmes fréquences.

#### **4.2.7 Prise d'images d'échantillons biologiques**

Des images de peau d'oignon et de plaque de croissance porcine (voir figure 4.10) ont été acquises pour tester le système. On remarque que la profondeur de pénétration dans la peau d'oignon est plus grande que celle dans la plaque de croissance. Ceci peut être dû à un coefficient d'absorption plus élevé dans la plaque de croissance. Un coefficient de diffusion plus élevé pourrait aussi mener à une diminution de la profondeur de pénétration, car moins de photons seraient rétrodiffusés de manière balistique vers la lentille objectif. La profondeur de pénétration étant plus élevée pour la peau d'oignon, on arrive à délimiter le contour des cellules, dont la paroi est très réfléchissante.

On voit sur ces images que la profondeur de pénétration est beaucoup plus élevée à 1300 nm. Le bruit à basse fréquence à 780 nm ainsi que le bruit de la source sont tellement élevés qu'il est impossible d'augmenter le gain du détecteur afin d'obtenir un meilleur rapport signal sur bruit sans le faire saturer. Ceci est inhérent à l'absence de détection balancée dans le sous-système OCT à 780 nm.

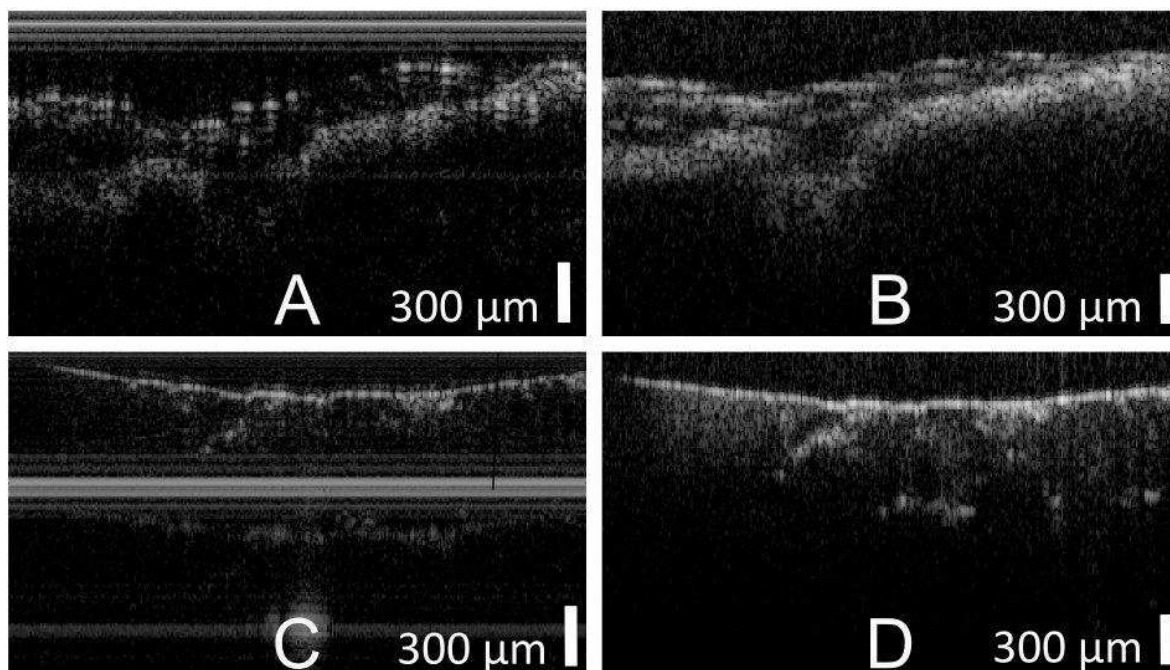


FIGURE 4.10 Image d'échantillons biologiques avec le système OCT deux couleurs sans détection balancée. (A) et (B) montrent un oignon imagé à 780 nm et 1300 nm respectivement. (C) et (D) montrent une plaque de croissance imagée à 780 nm et 1300 nm respectivement.

### 4.3 Système OCT deux couleurs avec détection balancée à 780 nm

Une amélioration apportée au système a donc été réalisée afin de permettre la détection balancée. Comme montré à la figure 4.11, le bras de référence à 780 nm n'est plus en réflexion mais plutôt en transmission. En insérant dans les deux branches d'entrée d'un coupleur la sortie du nouveau bras de référence et celle du bras d'échantillon, on permet la détection balancée.

L'utilisation de ce système balancé résout plusieurs problèmes retrouvés sur le système non balancé, en permettant notamment de s'affranchir :

1. de l'auto-interférence dans chacun des bras provenant des différentes réflexions non désirées, particulièrement celles provenant des connexions entre les fibres ;
2. d'une partie du bruit à haute fréquence du laser ;
3. et de l'auto-interférence issue du battement des différents modes se propageant dans la fibre dans chacun des bras.



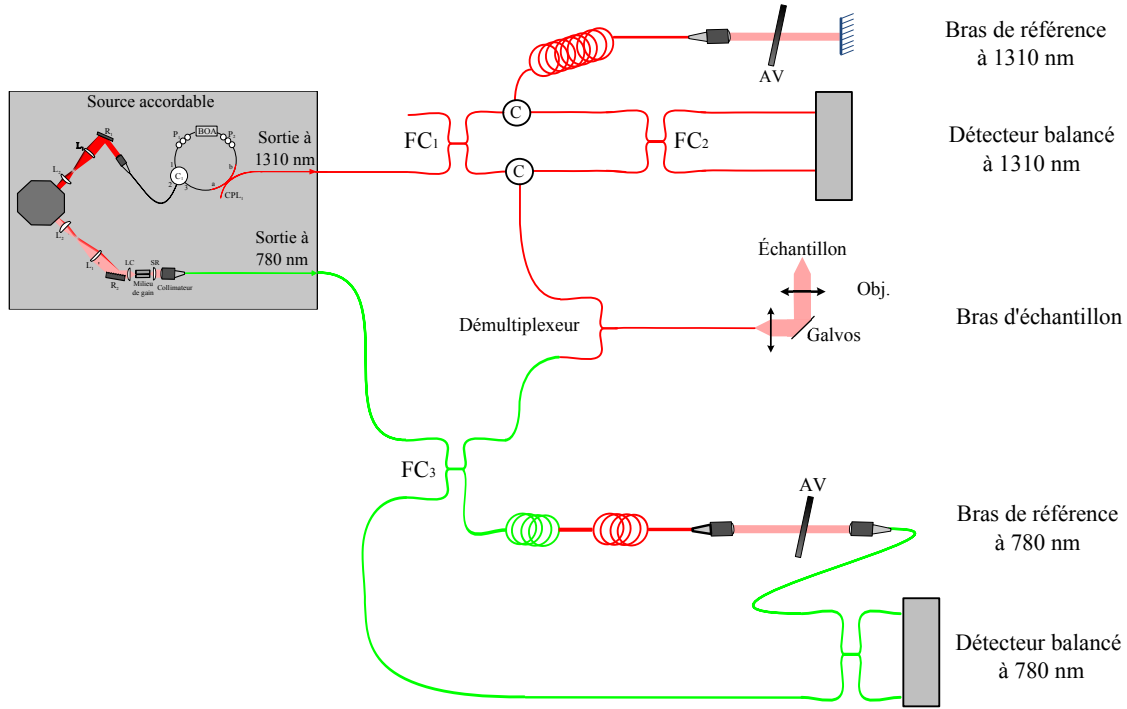


FIGURE 4.11 Schéma d'un OCT deux couleurs à 780 nm et 1300 nm avec détection balancée pour les deux systèmes. La fibre optique unimodale à 780 nm (HP-780) est dessinée en vert et celle à 1300 nm (SMF-28) est dessinée en rouge.

La figure 4.12 permet d'illustrer l'amélioration de la qualité des images avec détection balancée. Pour ce faire, une mince tranche de ruban adhésif d'épaisseur égale à  $200\ \mu\text{m}$  a été repliée sur elle-même. On obtient donc une superposition de couches d'air et de ruban adhésif. L'image en détection balancée (B) à 780 nm contient clairement moins d'artéfacts que l'image sans détection balancée (A), ce qui permet notamment d'accroître le gain sans faire saturer le détecteur.

Toutefois, le détecteur balancé InGaAs utilisé (2117-FC, *Newport*, Montana, É.-U.) est moins sensible qu'un détecteur balancé au silicium (2107-FC, *Newport*, Montana, É.-U.) à 780 nm. En effet, la responsivité du détecteur InGaAs est inférieure  $0,2\ \text{A/W}$ , tandis que celle du détecteur au silicium est de  $0,5\ \text{A/W}$ . Ce faisant, puisque le gain du détecteur doit être élevé pour avoir un signal suffisant, la bande passante et la profondeur de pénétration sont affectées. Afin d'obtenir une meilleure profondeur de pénétration, l'utilisation d'un détecteur balancé au silicium est donc indispensable.

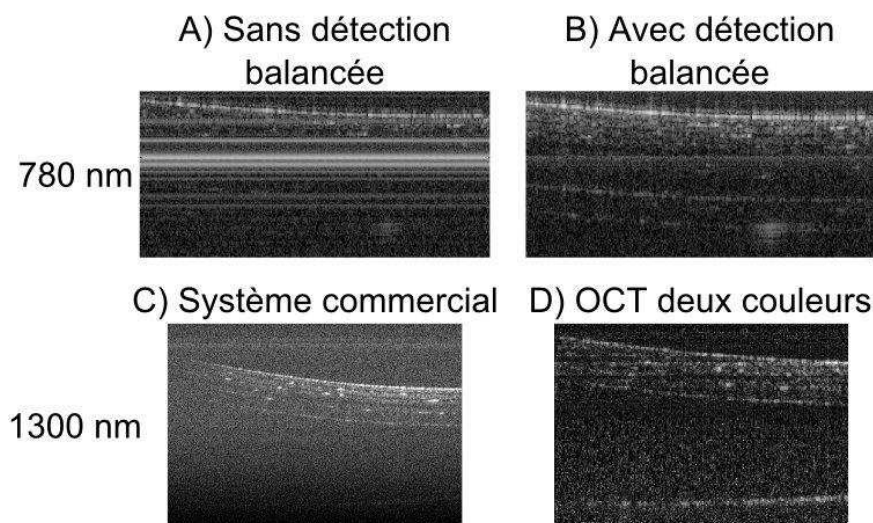


FIGURE 4.12 Images d'un ruban adhésif replié sur lui-même avec le système OCT deux couleurs. Les images A et B sont prises à 780 nm, tandis que les images C et D sont prises à 1300 nm (D).

On remarque aussi sur les images qu'il est difficile de différencier les couches d'air du ruban adhésif. Ceci est causé par le fait que les couches d'air sont de l'ordre de la résolution de notre système. En utilisant un système commercial (*Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) possédant une meilleure résolution (voir figure 4.12 C), on voit apparaître l'interstice d'air entre chaque couche de ruban adhésif.

### 4.3.1 Images d'échantillons biologiques en détection balancée

Une fois le système OCT deux couleurs en détection balancée fonctionnel dans les deux bandes spectrales, des séries d'images biologiques de doigts ont été prises. Sur la première série d'images (voir figure 4.13), il n'y a pas de couche d'air entre l'extrémité de l'ongle et la peau sous-jacente. De plus, on constate que la profondeur de pénétration est plus grande à 1300 nm qu'à 780 nm, ce qui était attendu. En effet, on distingue clairement l'épiderme du derme dans les images à 1300 nm, tandis qu'il est impossible d'en faire autant à 780 nm. En regardant l'image brute à 780 nm (figure 4.13 B), il est possible de distinguer une légère augmentation de signal dans le derme, mais elle n'est pas assez marquée pour confirmer qu'il est possible d'imager aussi profondément. De plus, le rapport signal sur bruit étant relativement faible à 780 nm, il est difficile de distinguer le bruit dans l'image de la couche épidermique. Ceci est dû à l'utilisation d'un détecteur InGaAs comme mentionné dans la section précédente ainsi qu'au fait que l'épiderme est moins rétrodiffusant que le derme.

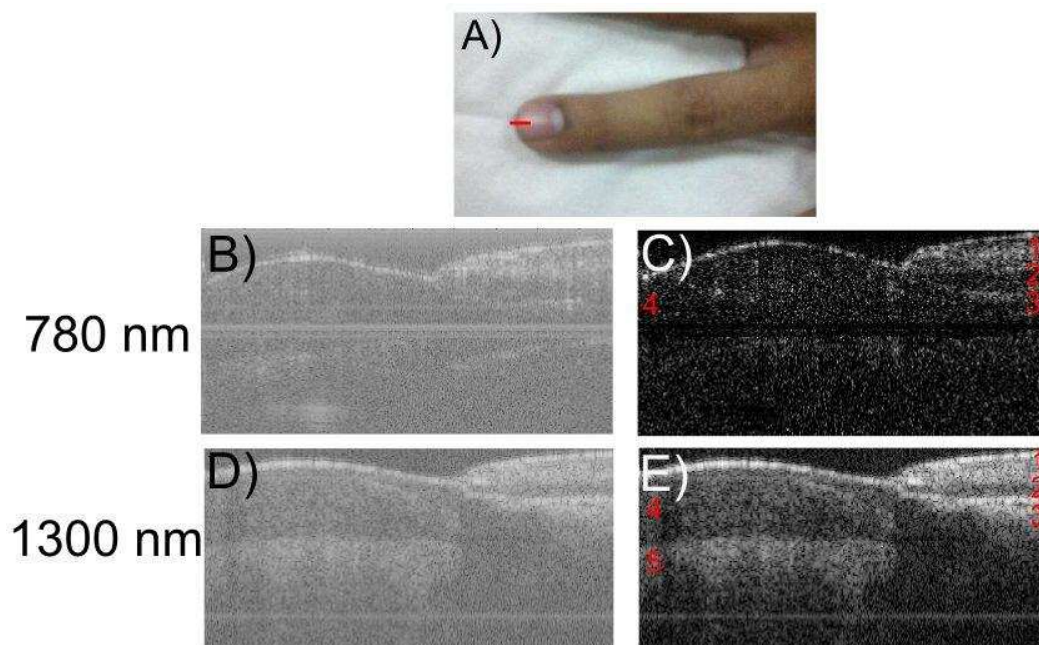


FIGURE 4.13 Images obtenues du bout d'un doigt (A) à l'aide du système OCT deux couleurs en détection balancée à 780 nm (B et C) et 1300 nm (D et E). Les images B et D sont les images brutes du système, tandis que les images C et E ont été traitées afin d'améliorer le contraste et éliminer le bruit. On distingue deux strates (1 et 2) dans l'ongle du sujet ainsi que la peau sous-jacente (3). On distingue également l'épiderme (4) du derme (5) sur la peau du sujet.

Sur la deuxième série d'images (voir figure 4.14), les mêmes constatations peuvent être effectuées. De plus, on arrive à distinguer une couche d'air entre la peau et l'extrémité de l'ongle à 1300 nm puisqu'il était un peu plus long que celui du premier doigt imagé. Cette couche d'air est également distinguable à 780 nm, tout comme la peau sous-jacente.

### 4.3.2 Améliorations futures du système

Bien que les images démontrent le potentiel de la source double-bande en OCT deux couleurs, le signal n'est pas suffisant pour permettre de prendre des images à une profondeur suffisante à 780 nm et ainsi pouvoir comparer quantitativement les coefficients d'atténuation dans les deux bandes spectrales. Comme mentionné précédemment, afin d'améliorer la profondeur de pénétration, utiliser un détecteur balancé au silicium permettrait d'obtenir un signal suffisant sans diminuer la bande passante.

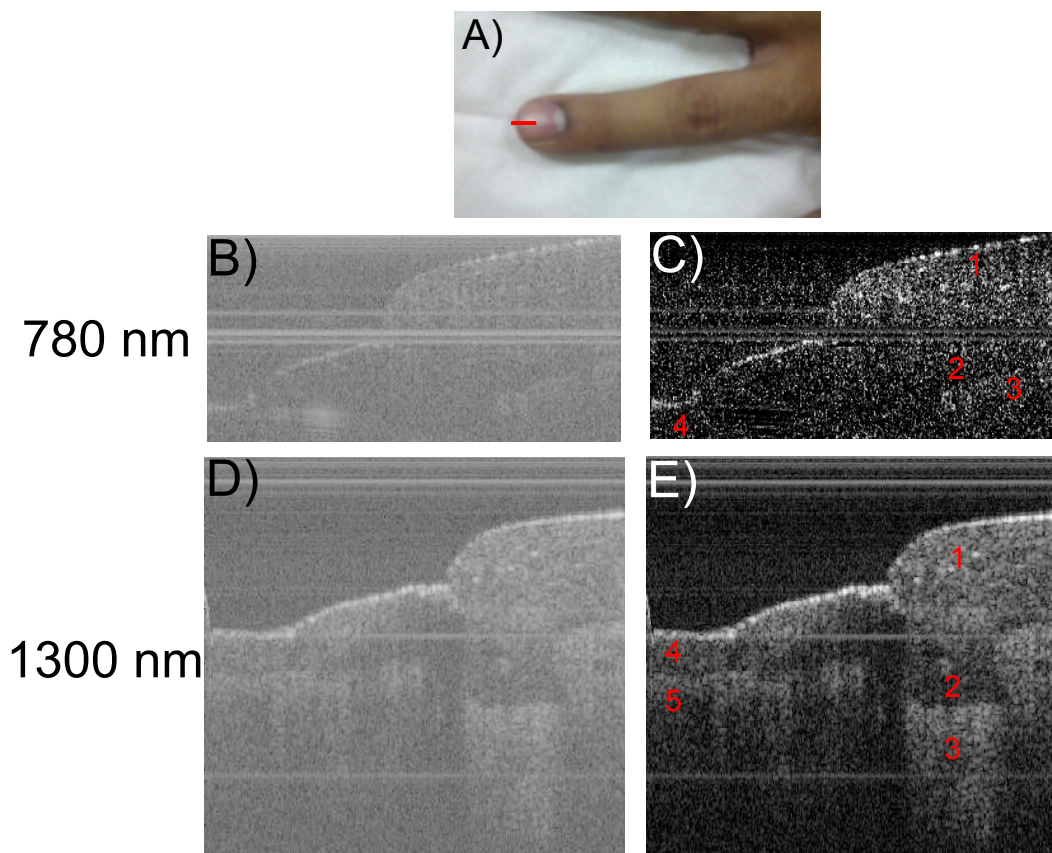


FIGURE 4.14 Images obtenues du bout d'un doigt (A) à l'aide du système OCT deux couleurs en détection balancée à 780 nm (B et C) et 1300 nm (D et E). Les images B et D sont les images brutes du système, tandis que les images C et E ont été traitées afin d'améliorer le contraste et éliminer le bruit. On distingue l'ongle (1) ainsi qu'une couche d'air (2) avant d'atteindre la peau sous-jacente (3). On distingue également l'épiderme (4) du derme (5) sur la peau du sujet dans les images à 1300 nm.

Par la suite, pour récupérer un signal plus intense du bras d'échantillon et éliminer les réflexions parasites provenant de la fusion de fibres à taille de cœur différente, il faudrait concevoir un démultiplexeur plus performant. Celui-ci pourrait provenir de la fusion de 2 fibres unimodales respectivement à 780 nm et 1300 nm contrairement au démultiplexeur utilisé étant fabriqué entièrement en fibre unimodale à 1300 nm. Diminuer le nombre de connecteurs par fusion des fibres dans le système permettrait également de diminuer les pertes. Dans ce cas, il faudrait toutefois s'assurer de ne pas augmenter la dispersion causée par la SMF-28 à 780 nm lors des fusions.

Le rajout d'un télescope pour conjuguer l'objectif de microscope au balayage des galvanomètres permettrait également de s'assurer que le champ de vue soit le plus droit possible et non plus courbe comme c'est le cas présentement. Ce télescope devrait être conçu pour

être totalement achromatique afin de s'assurer que les points focaux des faisceaux des deux bandes spectrales soient le mieux superposés possible.

Une fois ces améliorations effectuées, afin d'atteindre le plein potentiel du système, il faudrait concevoir des fantômes pour bien pouvoir ajuster les champs de vue en profondeur dans les deux bandes spectrales. En effet, puisque l'indice de réfraction des échantillons étudiés change en fonction de la longueur d'onde, une calibration s'avère nécessaire pour superposer les images et pouvoir analyser quantitativement la plus value apportée par l'acquisition d'images deux couleurs.

## CHAPITRE 5

### SYSTÈMES D'IMAGERIE EN DÉVELOPPEMENT

Outre le système OCT deux couleurs, deux autres systèmes d'imagerie multimodale basés sur la source à balayage spectral double-bande simultanée sont en développement. Ce chapitre décrit les principales avancées de ces deux systèmes.

#### 5.1 Système d'imagerie combinant OCT et SECM

Un système d'imagerie combinant l'OCT et la microscopie confocale encodée spectralement (*Spectrally Encoded Confocal Microscopy* ou SECM [58]) est présentement en développement par Etienne De Montigny, un étudiant au doctorat au LODI. Dans ce système, la microscopie confocale encodée spectralement permet d'obtenir des images de surface de l'échantillon avec une résolution de l'ordre du micromètre simultanément à l'image de coupe obtenue en OCT. Durant ma maîtrise, en plus de permettre l'intégration de la source double-bande dans le système d'imagerie, j'ai contribué à la conception et à l'alignement de l'instrument, principalement par l'élaboration de solutions pour obtenir des images tridimensionnelles de l'échantillon et miniaturiser le montage.

##### 5.1.1 Fonctionnement d'un microscope confocal

Le système conçu combine deux modalités d'imagerie, soit l'OCT qui permet la visualisation 3D en profondeur d'un échantillon et la microscopie confocale qui permet la prise d'images de surface à haute résolution. Une brève explication de la microscopie confocale est présentée afin de mieux comprendre le fonctionnement du système. Contrairement à la microscopie conventionnelle, la microscopie confocale permet un sectionnement optique, i.e. l'imagerie à haute résolution de coupes virtuelles d'un échantillon épais.

Afin de rendre possible ce sectionnement optique de l'échantillon (voir figure 5.1), on l'imagine point par point à l'aide d'une source laser monochromatique. Afin de ne récupérer que les photons provenant du point focal, des trous sténopéiques sont placés devant le détecteur et devant la source d'illumination de manière à ce qu'ils soient conjugués avec le point focal de l'objectif. Ce faisant, les photons rétrodiffusés provenant d'ailleurs que du plan focal ne peuvent passer à travers le trou et ne sont pas détectés par le détecteur (voir figure 5.1).

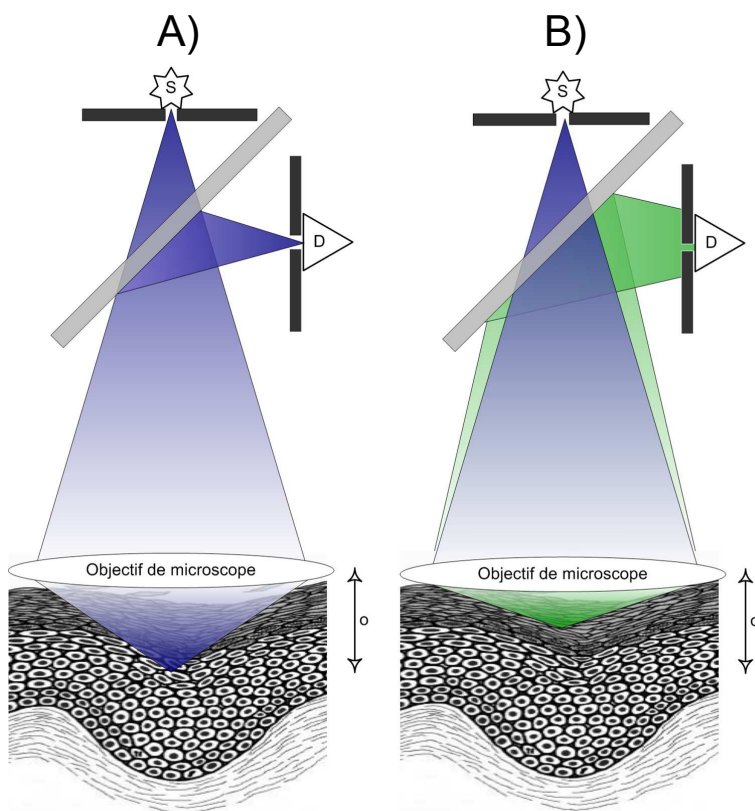


FIGURE 5.1 Schéma expliquant le fonctionnement d'un microscope confocal. L'illumination et la détection se font par des sources/détecteurs ponctuels (ou sources/détecteurs étendus devant lesquels sont placés des trous sténopéiques), ce qui permet de détecter les photons provenant du plan focal de l'objectif et de rejeter les photons rétrodiffusés de profondeurs différentes (B)). Image adaptée de [59].

Afin d'obtenir une image bidimensionnelle en microscopie confocale, un système de balayage mécanisé est incorporé au montage. Les balayeurs mécaniques peuvent entre autres prendre la forme de deux miroirs montés sur des galvanomètres. On peut accélérer la prise d'images en substituant le balayage mécanisé dans un axe par un balayage spectral, dont le principe est illustré à la figure 5.2. On substitue ainsi la source monochromatique par une source laser à balayage spectral et on ajoute un réseau de diffraction avant l'échantillon. On appelle cette technique microscopie confocale encodée spectralement (SECM).



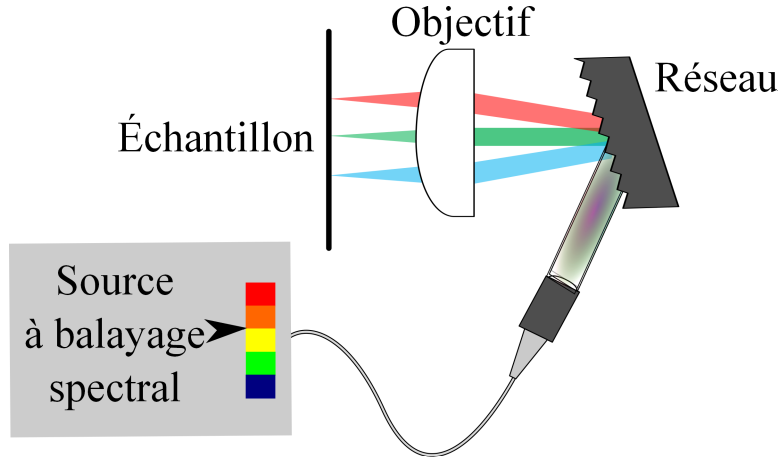


FIGURE 5.2 Fonctionnement d'un microscope confocal encodé spectralement. Chacun des points sur un axe de l'échantillon est encodé par une longueur d'onde différente grâce à un réseau de diffraction. Le réseau peut être en transmission ou encore en réflexion comme dans le cas présent. Une image 2D est obtenue par balayage mécanisé dans l'axe perpendiculaire au balayage spectral.

### 5.1.2 Description du système SECM/OCT

Le montage du système SECM/OCT est présenté à la figure 5.3. Le fonctionnement de l'OCT est le même que présenté précédemment. Un télescope a cependant été ajouté entre les galvanomètres et l'objectif de microscope afin d'augmenter la longueur de Rayleigh (et ainsi maximiser la profondeur de pénétration du système). Le télescope permet aussi de conjuguer le balayage du galvanomètre à la pupille de l'objectif.

Dans le cas du système SECM, un montage permettant l'imagerie cis- (en réflexion) a été conçu. Une lame séparatrice  $LS$  a d'abord été positionnée à la sortie de la source à 780 nm pour découpler l'illumination et la détection. Un miroir galvanométrique et un réseau de diffraction en transmission permettent ensuite d'effectuer un balayage mécanisé en  $x$  et un balayage spectral en  $y$ . Des télescopes sont placés de manière à conjuguer le balayage mécanisé du galvanomètre et le balayage spectral du réseau à la pupille de l'objectif de microscope. Afin de combiner le chemin optique des deux sous-systèmes, un miroir dichroïque  $DC$  est employé. La bande spectrale à 1300 nm correspondant à l'OCT est transmise par le miroir à l'aller et au retour, tandis que la bande spectrale à 780 nm correspondant au SECM est réfléchiée perpendiculairement au faisceau incident.



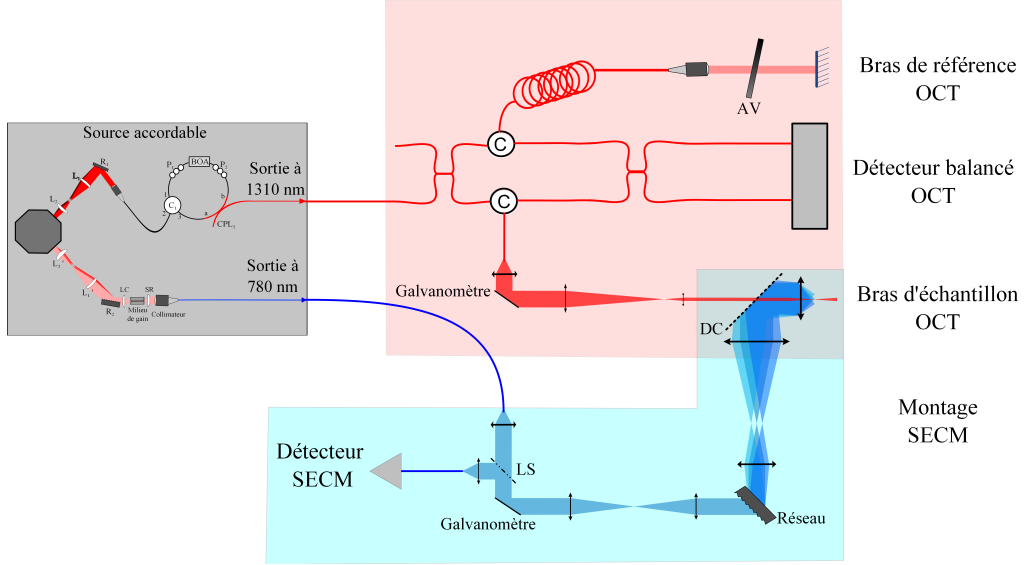


FIGURE 5.3 Schéma de principe du système combiné SECM/OCT. Les systèmes SECM (encadré en bleu) et OCT (encadré en rouge) sont indépendants jusqu'à la lame dichroïque *DC*. Dans le schéma, *LS* est une lame séparatrice, et *C* est un circulateur. Il est à noter que le réseau utilisé dans le montage SECM est en transmission dans le système.

### 5.1.3 Caractérisation du système SECM/OCT

La résolution latérale du système combiné est mesurée à l'aide d'une cible de résolution. Puisque les champs de vue sont orthogonaux en OCT et en SECM, la résolution latérale mesurée directement sur l'image SECM (figure 5.4 C) nécessite la prise d'une image tridimensionnelle en OCT (figure 5.4 A). Une reconstruction de la surface du volume (figure 5.4 B) est ensuite utilisée pour la mesure de la résolution latérale.

On voit que le chiffre 7 (encerclé en vert et ayant une taille de  $2\text{ }\mu\text{m}$ ) n'est distinguable qu'en SECM, ce qui permet d'apprécier qualitativement l'amélioration de la résolution en SECM par rapport à l'OCT. De la même manière, le champ de vue est plus grand en OCT (figure 5.4 A) qu'en SECM (figure 5.4 C), ce qui valide l'utilité de l'approche multimodale. Les valeurs exactes des résolutions et du champ de vue obtenus par chacun des sous-systèmes sont présentées au tableau 5.1.

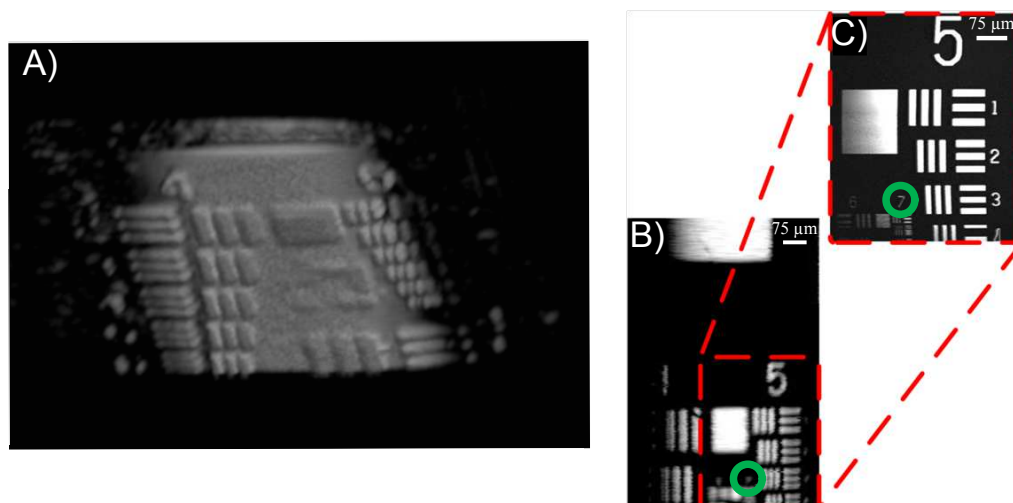


FIGURE 5.4 Images d'une cible de résolution à l'aide du système SECM/OCT : image tri-dimensionnelle à l'OCT (A), surface OCT obtenue par reconstruction (B) et surface correspondante en SECM (C). La reconstruction OCT (B) a été tronquée par rapport à l'image 3D (A) pour correspondre à l'image SECM (C).

TABEAU 5.1 Caractérisation du système d'imagerie SECM/OCT

	Unités	OCT	SECM
Résolution axiale	$\mu\text{m}$	19,0	10,0
Résolution latérale	$\mu\text{m}$	25,0	1,4
Champ de vue	mm	1,0 x 1,0 x 1,0	0,5 x 0,5

#### 5.1.4 Utilité du système SECM/OCT en imagerie

Un tel système combiné conviendrait à plusieurs applications telles que le guidage de biopsies (gastroentérologie, neurologie, etc.). Toutefois, ce système a été conçu principalement pour la détection des glandes parathyroïdes durant l'ablation de la thyroïde, appelée thyroïdectomie. Une thyroïdectomie est nécessaire pour traiter différentes affections, la principale étant le cancer de la thyroïde. À l'état actuel, reconnaître les parathyroïdes lors de chirurgies est ardu, car leur nombre (4 à 8) et leur position varient d'un individu à l'autre.[60] Il est primordial de pouvoir identifier les parathyroïdes de manière peropératoire, car leur excision iatrogénique est une source répandue de complications postopératoires. En effet, ces petites glandes permettent la régulation du calcium impliqué dans la contraction musculaire. Contrairement aux tissus thyroïdiens constitués de follicules emmagasinant les différentes hormones, les parathyroïdes ont une constitution plus dense et sont composées de cellules adipeuses. Une fois achevé, le système permettra donc l'identification des parathyroïdes basée sur leur morphologie différente de la thyroïde.

Il a été précédemment démontré que la microscopie confocale permet de différencier les parathyroïdes des thyroïdes, tel qu'illustré à la figure 5.5.[59] En effet, les follicules composant la thyroïde sont présentes dans l'image A, tandis qu'on remarque les noyaux très réfléchissants des petites cellules composant la parathyroïde sur l'image B. On remarque aussi la présence de tissu adipeux très réfléchissant sur l'image du tissu parathyroïdien.

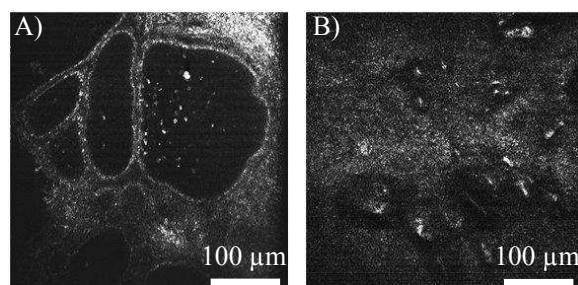


FIGURE 5.5 Images SECM d'échantillons frais de thyroïde (A) et de parathyroïde (B). Image tirée de [59].

Bien que la microscopie confocale permette de distinguer la parathyroïde de la thyroïde sur les images présentées à la figure 5.5, il est difficile de réaliser cette mesure *in vivo* à cause du tissu conjonctif recouvrant la thyroïde. L'OCT étant une modalité d'imagerie permettant d'imaginer en profondeur sans excision, un système combiné SECM/OCT permettrait de prendre des images de surface à haute résolution en SECM après avoir ciblé une zone contenant potentiellement une parathyroïde à l'aide de l'image grand champ fournie par l'OCT.

Afin de tester la capacité du système à distinguer ces petites glandes lors de thyroïdectomies, des images biologiques de tissus thyroïdiens porcins épais ont été acquises *ex vivo*. Les résultats sont présentés à la figure 5.6. Ainsi, autant sur l'image OCT que sur l'image SECM, on aperçoit les follicules composant la thyroïde.

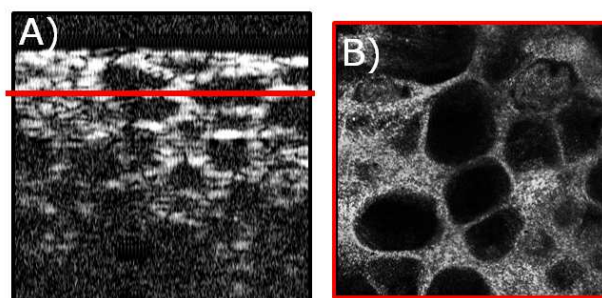


FIGURE 5.6 Images OCT (A) et SECM (B) *ex vivo* d'un tissu thyroïdien porcine obtenues à l'aide du système SECM/OCT. La ligne bleue sur l'image OCT présente la profondeur à laquelle l'image SECM a été acquise.

## 5.2 Système d'imagerie combinant l'OCT à la fluorescence

### 5.2.1 Utilité en imagerie médicale

Afin de mieux cibler les parathyroïdes dans un système *in vivo* comparativement au système SECM/OCT, une modalité d'imagerie fonctionnelle peut être envisagée. D'ailleurs, les parathyroïdes telles que vues par SECM peuvent être confondues avec des ganglions lymphatiques. Seule la présence de cellules adipeuses permet de les différencier, tel qu'illustré à la figure 5.7. Le faible champ de vue en SECM ne permet toutefois pas de toujours imager les zones de la parathyroïde contenant des cellules adipeuses. La source double-bande a donc aussi permis d'explorer la possibilité d'utiliser la fluorescence endogène de la parathyroïde à 780 nm.[61] Un système combinant l'OCT et la fluorescence à 780 nm permettrait d'obtenir à la fois une image *in vivo* structurale des tissus thyroïdiens et une détection des parathyroïdes par fluorescence.

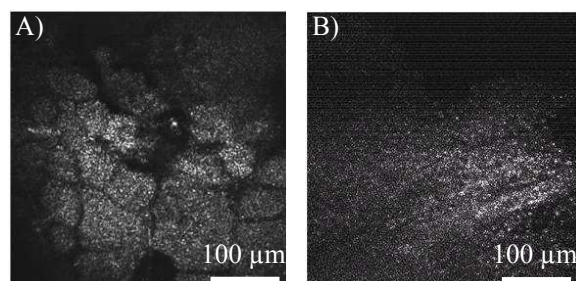


FIGURE 5.7 Images SECM d'échantillons frais de parathyroïde (A) et de ganglions lymphatiques (B) avec un champ de vue limité. Il arrive comme en (A) qu'aucune cellule adipeuse ne soit imagée. La parathyroïde ressemble alors beaucoup aux ganglions lymphatiques. Image tirée de [59].

### 5.2.2 Description du système combiné OCT/Fluo

Plusieurs endoscopes combinant l'OCT à la fluorescence ont été conçus par différents groupes de recherche (voir section 2.4.2). Pour certains systèmes, les trajets optiques sont découplés, ce qui augmente sensiblement la taille des endoscopes.[62] Pour d'autres, la combinaison entre les deux modalités est effectuée à l'aide de miroirs dichroïques.[63] Il y a donc risque de désalignement du faisceau en espace libre, ce qui peut être problématique en milieu clinique. L'utilisation de coupleurs en fibre à double-gaine (*dual-clad fiber* ou DCF) est donc une alternative de plus en plus utilisée pour combiner les deux modalités dans un endoscope.[64]

Ils permettent de concevoir des endoscopes de plus petite taille et sont plus robustes que l'optique en espace libre. Durant ma maîtrise, j'ai testé différents coupleurs en DCF fabriqués par Wendy-Julie Madore (*Laboratoire de Fibres Optiques* de l'École Polytechnique de Montréal) dans un système combiné OCT et fluorescence.

Une explication du fonctionnement du coupleur en DCF (*dual-clad fiber coupler* ou DCFC) s'impose pour comprendre comment découpler le signal OCT du signal de fluorescence. La conception du coupleur tire avantage du caractère incohérent et isotropique de la fluorescence en utilisant le cœur de la DCF pour l'illumination et la gaine pour une plus grande collection du faible signal de fluorescence. Le coupleur est conçu à l'aide d'une DCF (SM-9/105/125-20A, *Nufern*, Connecticut, É.-U.) ayant un cœur de  $9\text{ }\mu\text{m}$ , une gaine interne de  $105\text{ }\mu\text{m}$  et une gaine externe de  $125\text{ }\mu\text{m}$  tel qu'illustré à la figure 5.8.

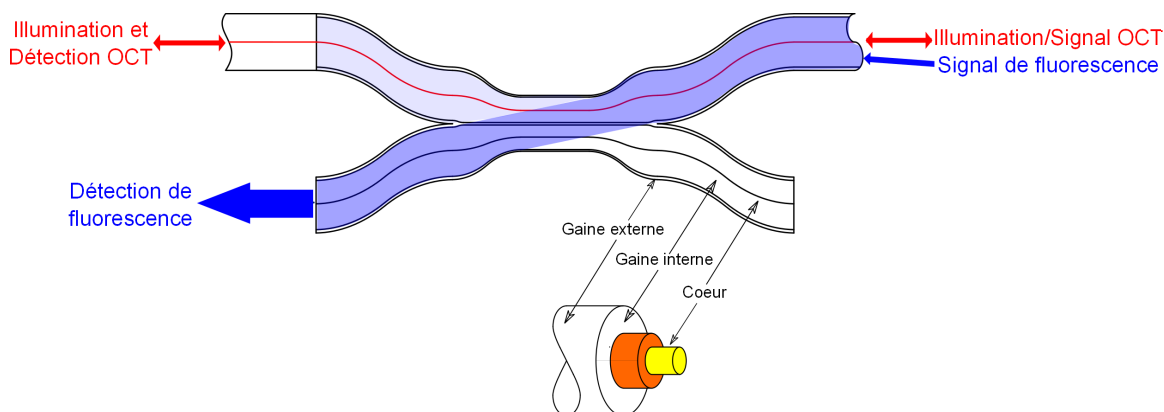


FIGURE 5.8 Fonctionnement d'un DCFC. Le coupleur permet de découpler la détection du signal de fluorescence (voyageant dans la gaine interne) et du signal OCT (voyageant dans le cœur). Adapté de [59] et [65].

Le coupleur en DCF n'a aucun effet notable sur le signal OCT. En effet, le cœur de la DCF permet de guider les longueurs d'onde associées à l'OCT à  $780\text{ nm}$  et  $1300\text{ nm}$ . Notons que le cœur de la DCF est multimodal à  $780\text{ nm}$ . Les effets de l'utilisation de la DCF sont donc semblables à ceux de l'utilisation de la fibre SMF-28 dans l'OCT à  $780\text{ nm}$  (voir section 4.2.5).

Quant au signal isotropique (émis dans toutes les directions) de fluorescence, il sera majoritairement collecté par la gaine interne de la DCF. Dans le coupleur, le signal contenu dans la gaine interne (fluorescence) de la DCF sera séparé du signal de cœur (OCT) tel qu'illustré à la figure 5.8.[66] On découple ainsi la détection de la fluorescence et de l'OCT sans avoir à se servir d'optique en espace libre nécessitant un alignement fin.

Le système d'imagerie combinant l'OCT et la fluorescence est présenté à la figure 5.9. Le système est semblable en tous points au système présenté au chapitre précédent, mis à part l'ajout d'un coupleur en DCF dans le bras d'échantillon et de longueurs de fibre équivalentes dans les bras de référence des deux sous-systèmes OCT à 780 nm et 1300 nm. Un filtre passe-haut à 800 nm (FEL0800, *Thorlabs*, New Jersey, É.-U.) est ajouté devant le détecteur de fluorescence pour éliminer la lumière résiduelle du laser.

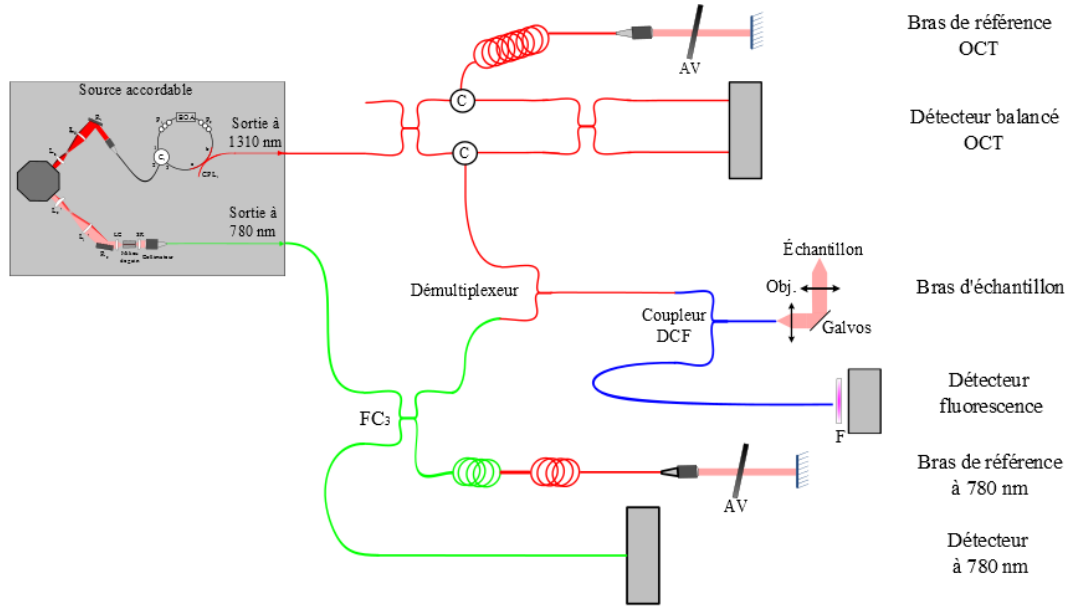


FIGURE 5.9 Schéma d'un OCT deux couleurs couplé à la détection de fluorescence. L'ajout d'un coupleur à fibre en double gaine (en bleu) dans le bras d'échantillon permet la détection de fluorescence. Dans le schéma,  $FC_3$  est un coupleur,  $AV$  est un atténuateur variable,  $F$  est un filtre passe-haut à 800 nm, et  $C$  est un circulateur.

### 5.2.3 Caractérisation du système OCT/Fluo

Afin de caractériser le système OCT/Fluo, des tubes de verre (capillaires) contenant une solution fluorescente d'Alexa Fluor 790 (*Invitrogen*, Burlington, États-Unis) à différentes concen-

trations a été employé. Ce fluorophore a été choisi, car sa bande spectrale d'excitation (voir figure 5.10) comprend la longueur d'onde d'excitation ( $\lambda_{exc} = 785 \text{ nm}$ ) de la parathyroïde retrouvée dans la littérature.[61] Le spectre d'excitation du fluorophore coïncide également avec la bande spectrale de la source centrée à 780 nm.

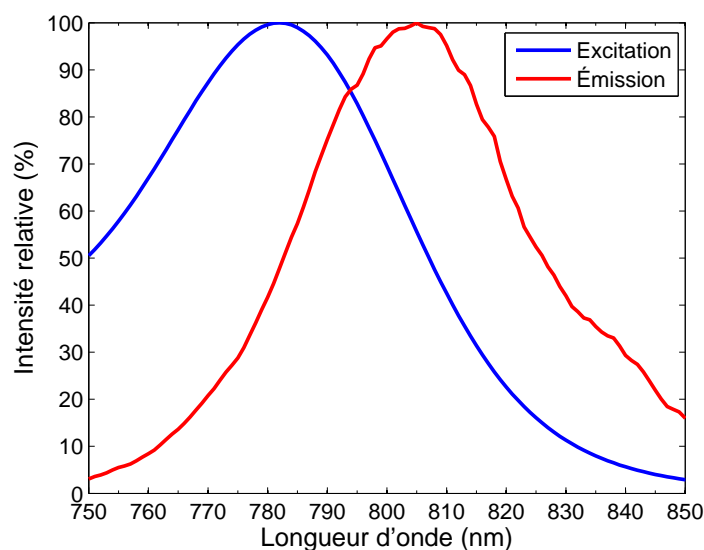


FIGURE 5.10 Spectres d'excitation et d'émission de l'Alexa Fluor 790. Image adaptée de <http://www.invitrogen.com>. Consulté le 2 mai 2013.

Un spectromètre (HR4000, *Ocean Optics*, Florida, É.-U.) a été utilisé pour détecter le signal de fluorescence afin de s'assurer que le signal récupéré était bien de la fluorescence et non la puissance résiduelle de la source à 780 nm après le filtre. Les images OCT ainsi que les spectres d'émission pour trois différentes concentrations de fluorophores sont présentés à la figure 5.11.

Le signal de fluorescence est plus intense si on augmente la concentration de fluorophores, ce qui était attendu. Plusieurs facteurs peuvent expliquer que l'émission de fluorescence ne soit pas proportionnelle à la concentration de fluorophores.[67] Un échantillon à faible concentration pourrait ainsi tendre à photoblanchir plus rapidement puisque la quantité de photons disponibles par molécule de fluorophore est plus élevée. Une erreur lors de la dilution de la solution fluorescente pour obtenir une concentration moins élevée est également plausible. De plus, un signal de fluorescence est également détecté pour l'échantillon composé d'eau. Ceci est dû au bruit intrinsèque du spectromètre ainsi qu'à la lumière ambiante, mais également à l'autofluorescence dans la fibre optique.

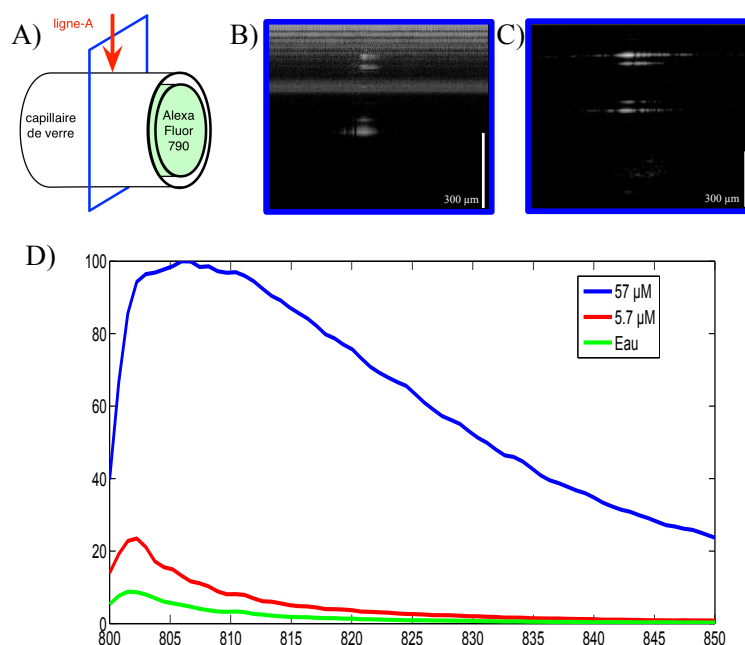


FIGURE 5.11 Images OCT à 780 nm (B) et 1300 nm (C) de capillaires (A) et spectres d'émission obtenus en fluorescence (D) pour différentes concentrations de solution fluorescente à 780 nm. Le carré bleu en (A) indique le champ de vue de l'image OCT.

En analysant les images OCT, on remarque qu'on ne voit pas les côtés du capillaire de verre, mais seulement le dessus et le dessous de ses parois. Ceci est dû à la déviation hors de l'angle d'acceptance de la lentille objectif de la réflexion spéculaire du faisceau incident sur la paroi lisse du capillaire. Par ailleurs, on remarque que la résolution axiale à 780 nm est moins bonne qu'à 1300 nm. Une moins bonne compensation de la dispersion de la DCF du bras d'échantillon dans le bras de référence à 780 nm comparativement à celui à 1300 nm peut être à l'origine de cette dégradation de la résolution.

La caractérisation du système OCT/Fluo étant effectuée sur des capillaires en verre remplis de solutions fluorescentes, il serait à présent intéressant de tester l'efficacité du système à identifier la présence de parathyroïdes sur des échantillons épais de thyroïdes porcines.



## CHAPITRE 6

### CONCLUSION

Le but de mon projet de maîtrise était de concevoir une source laser double-bande à balayage spectral simultané et d'en évaluer le potentiel pour des applications biomédicales en imagerie multimodale, tel que schématisé à la figure 6.1. Le premier jalon atteint fut donc la conception de la source. Deux bandes spectrales centrées à 780 nm et 1 300 nm furent choisies, l'une pour obtenir une résolution axiale de l'ordre du micromètre et l'autre pour obtenir une profondeur de pénétration de l'ordre du millimètre. De plus, la source à 780 nm permet l'excitation de fluorophores endogènes comme ceux présents dans la parathyroïde. La source fut caractérisée avec une attention particulière portée sur la simultanéité du balayage et sur son efficacité dans chacune des bandes spectrales.

Trois systèmes ont été conçus afin de démontrer l'utilité de la source en imagerie biomédicale. Un premier système OCT deux couleurs (780 nm et 1 300 nm) a le potentiel de permettre la prise de mesures quantitatives sur des échantillons biologiques présentant des réponses différentes aux deux longueurs d'onde. Un deuxième système combinant la microscopie confocale encodée spectralement et la tomographie par cohérence optique a permis d'obtenir à la fois la visualisation 3D en profondeur d'un échantillon et la prise d'images de surface à haute résolution. Un troisième système combinant l'OCT et la fluorescence offre la possibilité de jumeler l'imagerie fonctionnelle issue de la fluorescence et l'imagerie morphologique issue de l'OCT.

#### 6.1 Améliorations futures

Les sources laser accordables spectralement, de par la panoplie de gammes spectrales qu'elles peuvent couvrir, offrent une multitude de possibilités en imagerie (détection de fluorescence, résolution et profondeur de pénétration ajustables). Afin de maximiser l'efficacité de la source double-bande dans différents systèmes d'imagerie multimodale, différentes avenues peuvent être explorées.

Les sources accordables à 1 300 nm disponibles commercialement peuvent avoir des largeurs de bande accordable atteignant 100 nm, tandis que la source développée dans le cadre du projet est limitée à une largeur de bande de 75 nm. En alternant l'amplification de milieux de gain ayant des bandes spectrales voisines, il serait possible d'augmenter considérablement

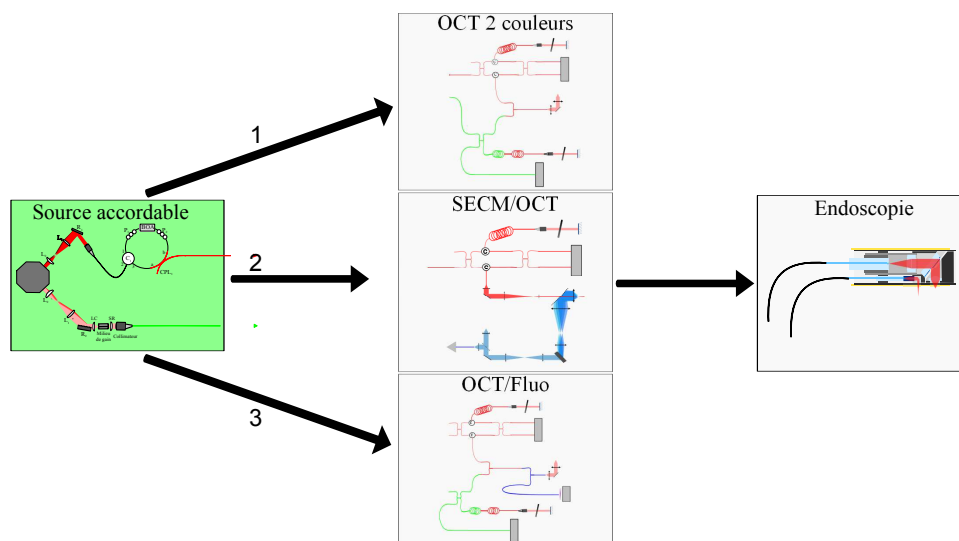


FIGURE 6.1 Schéma résumant les différentes étapes du projet.

la plage accordable et de dépasser la largeur de bande d'un milieu de gain unique. Ce faisant, la résolution des images obtenues serait grandement améliorée.

La substitution du milieu de gain par un milieu permettant une plus grande largeur de bande améliorerait également les performances de la source centrée à 780 nm. En fait, ce changement améliorerait la résolution de l'OCT à 780 nm plus fortement que le même changement dans la bande spectrale centrée à 1 300 nm, car la largeur de bande de la source à 780 nm n'est que de 40 nm présentement. Les milieux de gain fibrés n'offrant pas suffisamment de puissance, l'utilisation d'un milieu de gain en espace libre serait encore une fois appropriée.

L'utilisation de lentilles avec de meilleures couches antiréflexion éliminerait la cavité parasite de la source à 780 nm. Cela diminuerait en partie le bruit sur les images OCT obtenues à l'aide de la source. La cavité à 780 nm pourrait même être reconfigurée afin de ne pas utiliser de lentilles dans les télescopes. L'utilisation de miroirs paraboliques pourrait alors être envisagée.

De plus, puisque le polygone compte 36 facettes, il y a suffisamment d'espace pour ajouter un troisième filtre optique. Ainsi, l'ajout d'un troisième milieu de gain à 850 nm permettrait l'acquisition de cartes d'oxygénation des tissus, car le ratio d'absorption entre l'oxy-hémoglobine et la déoxy-hémoglobine s'inverse autour de 800 nm.

Finalement, la fabrication d'endoscopes adaptés à l'imagerie multimodale est également une avenue rendue possible par la source accordable spectralement. À cet effet, le développement de composants en fibre optique à double gaine est déjà entamé au *Laboratoire des fibres*

*optiques*, tout comme la conception de micro-pièces optiques (lentilles et réseaux) destinées à l'imagerie endoscopique au *Laboratoire d'Optique Diagnostique et d'Imagerie*.

## 6.2 Perspective d'avenir : l'imagerie CARS

L'utilisation de sources accordables comme celle conçue dans le cadre du projet est répandue en imagerie linéaire. Le développement de nouvelles sources impulsionnelles accordables spectralement pave la voie à de nouvelles applications en imagerie non-linéaire, plus particulièrement en diffusion Raman Anti-Stokes cohérente (*Coherent Anti-Stokes Raman Scattering* ou CARS).

### 6.2.1 Survol théorique d'un système CARS

L'imagerie CARS est une version cohérente (et donc plus intense) de la diffusion Raman et permet une imagerie spécifique des différents niveaux vibrationnels des molécules sondées.[68] Pour obtenir un signal CARS, deux lasers impulsionnels émettant à des longueurs d'onde différentes sont requis. Les deux lasers envoient d'abord la molécule sondée vers un état vibrationnel excité. Ensuite, le premier laser (*Master Oscillator Power Amplifier* ou MOPA) réexcite la molécule à un niveau virtuel. Le retour à l'état fondamental de la molécule produit finalement l'émission d'un photon anti-Stokes (voir figure 6.2). Ainsi, s'il y a émission d'un photon anti-Stokes, l'échantillon contient une molécule ayant une énergie de vibration égale à la différence d'énergie entre les lasers, soit :

$$E_{vib} = E_{MOPA} - E_{PL} = hc \left[ \frac{1}{\lambda_{MOPA}} - \frac{1}{\lambda_{PL}} \right]. \quad (6.1)$$

### 6.2.2 Sources à balayage spectral pour l'imagerie CARS du phosphate

En s'attardant à l'équation 6.1, on remarque que la vibration sondée dépend de la différence entre les longueurs d'onde des deux lasers. On peut donc imager spécifiquement la présence d'une molécule dans l'échantillon en ayant un laser à longueur d'onde fixe et un laser (*Programmable Laser* ou PL) accordable spectralement selon la vibration à étudier. On peut aussi

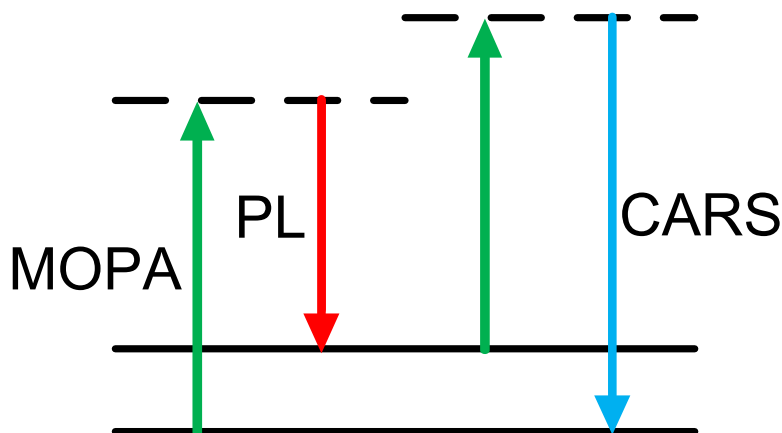


FIGURE 6.2 Diagramme de Jablonski de la diffusion Raman anti-Stokes cohérente. Dans le diagramme, une ligne continue représente un niveau vibrationnel, tandis qu'une ligne pointillée représente un niveau virtuel.

imager successivement et indépendamment dans un même balayage spectral du PL la présence de plusieurs molécules différentes, ce qui découple l'information obtenue sur un même échantillon.

Afin d'obtenir un signal CARS, des sources impulsionnelles doivent être employées. En effet, la probabilité des effets non-linéaires étant très faible, il faut concentrer les photons dans le temps et l'espace pour obtenir un signal CARS. De plus, les impulsions provenant du MOPA et du PL doivent arriver au même instant sur l'échantillon pour produire un signal CARS. Le système contenant les deux sources doit donc fournir la possibilité de retarder les impulsions du MOPA par rapport à celles du PL pour compenser la dispersion dans le système d'imagerie.[69]

L'imagerie CARS a déjà été employée en cardiologie pour sonder les lipides dans les plaques d'athérosclérose[68] ou dans les masses cancéreuses.[70] Elle n'a pas encore été étendue au diagnostic d'autres macromolécules à cause du fait que les sources lumineuses disponibles commercialement à ce jour sont conçues pour ne détecter que l'énergie de vibration des lipides.[71]

De nouvelles sources lumineuses à balayage spectral comme celles mentionnées à la section précédente permettent toutefois d'envisager l'étude de nouvelles molécules comme le phosphate, dont le pic Raman se trouve autour de  $960\text{ cm}^{-1}$ . Des applications en orthopédie peuvent déjà être envisagées. En effet, durant les chirurgies de la colonne vertébrale, il est difficile de différencier le disque intervertébral, la plaque de croissance et les vertèbres, ayant chacun un agencement et une concentration de phosphate différents. Leur différenciation

est primordiale lors de l'insertion d'agrafes visant à corriger la scoliose : les agrafes doivent être insérées dans les vertèbres et la plaque de croissance pour redresser la colonne durant la croissance et non dans le disque qui serait endommagé dû à sa structure annulaire. Un imageur CARS permettrait alors d'effectuer la différenciation de ces trois tissus de manière peropératoire plutôt que d'apposer les agrafes et de vérifier leur pose après coup à l'aide de rayons X.

La description de cette application comme perspective d'avenir n'est pas fortuite. En effet, mon projet de maîtrise devait à la base porter sur l'utilisation d'une source laser accordable disponible commercialement (Picosecond Synchronized Programmable Laser, *Génia Photonics*, Laval, Canada) dans un imageur CARS, mais des problèmes au niveau d'une des pièces de la source ont freiné mes ambitions. Le problème étant à présent réglé, l'assemblage du système d'imagerie a été entamé récemment.

## REFERENCES

- [1] V. Ntziachristos, C. Bremer, et R. Weissleder, “Fluorescence imaging with near-infrared light : new technological advances that enable in vivo molecular imaging,” *European Radiology*, vol. 13, no. 1, pp. 195–208, 2003. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1007/s00330-002-1524-x>
- [2] Z. Huang *et al.*, “Integrated raman spectroscopy and trimodal wide-field imaging techniques for real-time in vivo tissue raman measurements at endoscopy,” *Opt. Lett.*, vol. 34, no. 6, pp. 758–760, Mar 2009. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-34-6-758>
- [3] J. Xi, Y. Chen, Y. Zhang, K. Murari, M.-J. Li, et X. Li, “Integrated multimodal endomicroscopy platform for simultaneous en face optical coherence and two-photon fluorescence imaging,” *Opt. Lett.*, vol. 37, no. 3, pp. 362–364, Feb 2012. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-37-3-362>
- [4] A. G. Podoleanu, J. A. Rogers, D. J. Webb, et D. A. Jackson, “Criteria in the simultaneous presentation of the images provided by a stand-alone oct/slo system,” *Proc. SPIE*, vol. 3564, pp. 163–168, 1999. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/12.339149](http://dx.doi.org/10.1117/12.339149)
- [5] D. Huang *et al.*, “Optical coherence tomography,” *Science*, vol. 254, no. 5035, pp. 1178–1181, 1991. [En ligne]. Disponible : <http://www.sciencemag.org/content/254/5035/1178.abstract>
- [6] J. Ballif, R. Gianotti, P. Chavanne, R. Wälti, et R. P. Salathé, “Rapid and scalable scans at 21 m/s in optical low-coherence reflectometry,” *Opt. Lett.*, vol. 22, no. 11, pp. 757–759, Jun 1997. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-22-11-757>
- [7] D. J. Campbell, P. A. Krug, I. S. Falconer, L. C. Robinson, et G. D. Tait, “Rapid scan phase modulator for interferometric applications,” *Appl. Opt.*, vol. 20, no. 2, pp. 335–342, Jan 1981. [En ligne]. Disponible : <http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-20-2-335>
- [8] G. Hausler et M. W. Lindner, “Coherence radar and spectral radar—new tools for dermatological diagnosis,” *Journal of Biomedical Optics*, vol. 3, no. 1, pp. 21–31, 1998. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/1.429899](http://dx.doi.org/10.1117/1.429899)
- [9] M. Wojtkowski, V. Srinivasan, T. Ko, J. Fujimoto, A. Kowalczyk, et J. Duker, “Ultrahigh-resolution, high-speed, fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation,” *Opt. Express*, vol. 12, no. 11, pp. 2404–2422, May 2004. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-12-11-2404>

- [10] S. Yun, G. Tearney, J. de Boer, N. Iftimia, et B. Bouma, "High-speed optical frequency-domain imaging," *Opt. Express*, vol. 11, no. 22, pp. 2953–2963, Nov 2003. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-11-22-2953>
- [11] S. R. Chinn, E. A. Swanson, et J. G. Fujimoto, "Optical coherence tomography using a frequency-tunable optical source," *Opt. Lett.*, vol. 22, no. 5, pp. 340–342, Mar 1997. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-22-5-340>
- [12] S. Moon et D. Y. Kim, "Ultra-high-speed optical coherence tomography with a stretched pulse supercontinuum source," *Opt. Express*, vol. 14, no. 24, pp. 11 575–11 584, Nov 2006. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-14-24-11575>
- [13] M. A. Choma, M. V. Sarunic, C. Yang, et J. A. Izatt, "Sensitivity advantage of swept source and fourier domain optical coherence tomography," *Optics Express*, vol. 11, no. 18, pp. 2183–2189, 2003.
- [14] M. N. Menke, P. Knecht, V. Sturm, S. Dabov, et J. Funk, "Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements using 3d fourier-domain oct," *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 49, no. 12, pp. 5386–5391, 2008.
- [15] L. V. Wang et H. Wu., *Biomedical Optics : Principles and Imaging*. Wiley-Interscience, 2007.
- [16] J. G. Fujimoto *et al.*, "Optical coherence tomography," *Optical Engineering*, vol. 80, pp. 699–744, 2003.
- [17] W. Drexler *et al.*, "In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography," *Opt. Lett.*, vol. 24, no. 17, pp. 1221–1223, Sep 1999. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-24-17-1221>
- [18] S. Yun, C. Boudoux, M. Pierce, J. De Boer, G. Tearney, et B. Bouma, "Extended-cavity semiconductor wavelength-swept laser for biomedical imaging," *Photonics Technology Letters, IEEE*, vol. 16, no. 1, pp. 293–295, 2004.
- [19] S. H. Yun, C. Boudoux, G. J. Tearney, et B. E. Bouma, "High-speed wavelength-swept semiconductor laser with a polygon-scanner-based wavelength filter," *Opt. Lett.*, vol. 28, no. 20, pp. 1981–1983, Oct 2003. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-28-20-1981>
- [20] R. Huber, D. C. Adler, V. J. Srinivasan, et J. G. Fujimoto, "Fourier domain mode locking at 1050 nm for ultra-high-speed optical coherence tomography of the human retina at 236,000 axial scans per second," *Opt. Lett.*, vol. 32, no. 14, pp. 2049–2051, Jul 2007. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-32-14-2049>

- [21] M. Wojtkowski, “High-speed optical coherence tomography : basics and applications,” *Appl. Opt.*, vol. 49, no. 16, pp. D30–D61, Jun 2010. [En ligne]. Disponible : <http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-49-16-D30>
- [22] A. Bilenca, S. H. Yun, G. J. Tearney, et B. E. Bouma, “Numerical study of wavelength-swept semiconductor ring lasers : the role of refractive-index nonlinearities in semiconductor optical amplifiers and implications for biomedical imaging applications,” *Opt. Lett.*, vol. 31, no. 6, pp. 760–762, Mar 2006. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-31-6-760>
- [23] V.-F. Duma et A. G. Podoleanu, “Polygon mirror scanners in biomedical imaging : a review,” dans *SPIE OPTO*. International Society for Optics and Photonics, 2013, pp. 86 210V–86 210V.
- [24] A. F. Fercher, K. Mengedoht, et W. Werner, “Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light,” *Opt. Lett.*, vol. 13, no. 3, pp. 186–188, Mar 1988. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-13-3-186>
- [25] E. A. Swanson *et al.*, “In vivo retinal imaging by optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, vol. 18, no. 21, pp. 1864–1866, Nov 1993. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-18-21-1864>
- [26] G. J. Tearney, B. E. Bouma, S. A. Boppart, B. Golubovic, E. A. Swanson, et J. G. Fujimoto, “Rapid acquisition of in vivo biological images by use of optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, vol. 21, no. 17, pp. 1408–1410, Sep 1996. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-21-17-1408>
- [27] G. J. Tearney *et al.*, “Scanning single-mode fiber optic catheter-endoscope for optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, vol. 21, no. 7, pp. 543–545, Apr 1996. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-21-7-543>
- [28] G. J. Tearney, I.-K. Jang, et B. E. Bouma, “Optical coherence tomography for imaging the vulnerable plaque,” *Journal of Biomedical Optics*, vol. 11, no. 2, pp. 021 002–021 002–10, 2006. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/1.2192697](http://dx.doi.org/10.1117/1.2192697)
- [29] G. Guagliumi et V. Sirbu, “Optical coherence tomography : high resolution intravascular imaging to evaluate vascular healing after coronary stenting,” *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, vol. 72, no. 2, pp. 237–247, 2008.
- [30] P. A. Testoni et B. Mangiavillano, “Optical coherence tomography in detection of dysplasia and cancer of the gastrointestinal tract and bilio-pancreatic ductal system,” *World journal of gastroenterology : WJG*, vol. 14, no. 42, p. 6444, 2008.
- [31] K. Kincade, “Oct market to top 800 million by 2012.” *Laser Focus World*, vol. -, p. 48, 2008.



- [32] F. Spoler *et al.*, “Simultaneous dual-band ultra-high resolution optical coherence tomography,” *Opt. Express*, vol. 15, no. 17, pp. 10 832–10 841, Aug 2007. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-15-17-10832>
- [33] K. Beaudette, M. Strupler, F. Benboujja, S. Parent, C.-E. Aubin, et C. Boudoux, “Optical coherence tomography for the identification of musculoskeletal structures of the spine : a pilot study,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 3, no. 3, pp. 533–542, Mar 2012. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsinfobase.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-3-3-533>
- [34] U. Morgner *et al.*, “Spectroscopic optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, vol. 25, no. 2, pp. 111–113, Jan 2000. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-25-2-111>
- [35] F. E. Robles, S. Chowdhury, et A. Wax, “Assessing hemoglobin concentration using spectroscopic optical coherence tomography for feasibility of tissue diagnostics,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 1, no. 1, pp. 310–317, Aug 2010. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsinfobase.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-1-1-310>
- [36] V. Gelikonov, G. Gelikonov, et F. Feldchtein, “Two-wavelength optical coherence tomography,” *Radiophysics and Quantum Electronics*, vol. 47, no. 10-11, pp. 848–859, 2004. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1007/s11141-005-0024-7>
- [37] S. Kray, F. Spoler, M. Forst, et H. Kurz, “High-resolution simultaneous dual-band spectral domain optical coherence tomography,” *Opt. Lett.*, vol. 34, no. 13, pp. 1970–1972, Jul 2009. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-34-13-1970>
- [38] Y. Mao, S. Chang, E. Murdock, et C. Flueraru, “Simultaneous dual-wavelength-band common-path swept-source optical coherence tomography with single polygon mirror scanner,” *Opt. Lett.*, vol. 36, no. 11, pp. 1990–1992, Jun 2011. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-36-11-1990>
- [39] N. Iftimia *et al.*, “Combined reflectance confocal microscopy/optical coherence tomography imaging for skin burn assessment,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 4, no. 5, pp. 680–695, May 2013. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsinfobase.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-4-5-680>
- [40] D. Kang *et al.*, “Combined spectrally encoded confocal microscopy and optical frequency domain imaging system,” *Proc. SPIE*, vol. 7172, pp. 717 206–717 206–7, 2009. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/12.808028](http://dx.doi.org/10.1117/12.808028)
- [41] L. P. Hariri, A. R. Tumlinson, D. G. Besselsen, U. Utzinger, E. W. Gerner, et J. K. Barton, “Endoscopic optical coherence tomography and laser-induced fluorescence spectroscopy in a murine colon cancer model,” *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 38, no. 4, pp. 305–313, 2006. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.20305>

- [42] B. T. Amaechi, A. Podoleanu, S. M. Higham, et D. A. Jackson, "Correlation of quantitative light-induced fluorescence and optical coherence tomography applied for detection and quantification of early dental caries," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 8, no. 4, pp. 642–647, 2003. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/1.1606685](http://dx.doi.org/10.1117/1.1606685)
- [43] B. R. Biedermann, W. Wieser, C. M. Eigenwillig, et R. Huber, "Recent developments in fourier domain mode locked lasers for optical coherence tomography : Imaging at 1310 nm vs. 1550 nm wavelength," *Journal of Biophotonics*, vol. 2, no. 6-7, pp. 357–363, 2009. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1002/jbio.200910028>
- [44] V. J. Srinivasan *et al.*, "High-speed, high-resolution optical coherence tomography retinal imaging with a frequency-swept laser at 850 nm," *Opt. Lett.*, vol. 32, no. 4, pp. 361–363, Feb 2007. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-32-4-361>
- [45] Corning, *Corning SMF-28 Optical Fiber Product Information*, 2nd ed., Corning Inc., One Riverfront Plaza, Corning, NY 14831, U.S.A., April 2002. [En ligne]. Disponible : [www.photonics.byu.edu/FiberOpticConnectors.parts/images/smf28.pdf](http://www.photonics.byu.edu/FiberOpticConnectors.parts/images/smf28.pdf)
- [46] G. M. Hale et M. R. Querry, "Optical constants of water in the 200-nm to 200-um wavelength region," *Appl. Opt.*, vol. 12, no. 3, pp. 555–563, Mar 1973. [En ligne]. Disponible : <http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-12-3-555>
- [47] H. Lim, J. F. de Boer, B. H. Park, E. C. Lee, R. Yelin, et S. H. Yun, "Optical frequency domain imaging with a rapidly swept laser in the 815-870 nm range," *Opt. Express*, vol. 14, no. 13, pp. 5937–5944, Jun 2006. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-14-13-5937>
- [48] E. Hecht, *Optics*. Addison-Wesley Longman, Incorporated, 2002. [En ligne]. Disponible : <http://books.google.ca/books?id=7aG6QgAACAAJ>
- [49] K. Liu et M. G. Littman, "Novel geometry for single-mode scanning of tunable lasers," *Opt. Lett.*, vol. 6, no. 3, pp. 117–118, Mar 1981. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-6-3-117>
- [50] K. C. Harvey et C. J. Myatt, "External-cavity diode laser using a grazing-incidence diffraction grating," *Opt. Lett.*, vol. 16, no. 12, pp. 910–912, Jun 1991. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-16-12-910>
- [51] M. Strupler, N. Goulamhousen, E. De Montigny, et C. Boudoux, "Rapidly wavelength-swept laser at 780 nm," *Photonics Technology Letters, IEEE*, vol. 23, no. 4, pp. 197–199, 2011.
- [52] J. Masson, R. St-Gelais, A. Poulin, et Y.-A. Peter, "Tunable fiber laser using a mems-based in plane fabry-perot filter," *Quantum Electronics, IEEE Journal of*, vol. 46, no. 9, pp. 1313–1319, 2010.

- [53] S. Lacroix, *Introduction à l'optique moderne*, P. I. Polytechnique, Ed. Presses Intern. Polytechnique, 2008.
- [54] M. Polyanskiy. (2012, April) Refractive index database. [En ligne]. Disponible : <http://refractiveindex.info/?group=GLASSES&material=BK7>
- [55] J.-H. Han et J. Kang, "Effect of multimodal coupling in imaging micro-endoscopic fiber bundle on optical coherence tomography," *Applied Physics B*, vol. 106, no. 3, pp. 635–643, 2012. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1007/s00340-011-4847-y>
- [56] J. Bures, *Optique guidée - Fibres optiques et composants passifs tout-fibre*, P. I. Polytechnique, Ed. Presses Intern. Polytechnique, 2009.
- [57] A. G. Podoleanu, "Unbalanced versus balanced operation in an optical coherence tomography system," *Appl. Opt.*, vol. 39, no. 1, pp. 173–182, Jan 2000. [En ligne]. Disponible : <http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-39-1-173>
- [58] G. J. Tearney, R. H. Webb, et B. E. Bouma, "Spectrally encoded confocal microscopy," *Opt. Lett.*, vol. 23, no. 15, pp. 1152–1154, Aug 1998. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-23-15-1152>
- [59] C. Boudoux, "Wavelength swept spectrally encoded confocal microscopy for biological and clinical applications," Thèse de doctorat, Massachusetts Institute of Technology,, 2007.
- [60] W. K. Cheah, C. Arici, P. H. Ituarte, A. E. Siperstein, Q.-Y. Duh, et O. H. Clark, "Complications of neck dissection for thyroid cancer," *World journal of surgery*, vol. 26, no. 8, pp. 1013–1016, 2002.
- [61] C. Paras, M. Keller, L. White, J. Phay, et A. Mahadevan-Jansen, "Near-infrared autofluorescence for the detection of parathyroid glands," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 16, no. 6, pp. 067 012–067 012–4, 2011. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/1.3583571](http://dx.doi.org/10.1117/1.3583571)
- [62] Y. T. Pan, T. Q. Xie, C. W. Du, S. Bastacky, S. Meyers, et M. L. Zeidel, "Enhancing early bladder cancer detection with fluorescence-guided endoscopic optical coherent tomography," *Opt. Lett.*, vol. 28, no. 24, pp. 2485–2487, Dec 2003. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-28-24-2485>
- [63] H. Yoo *et al.*, "Intra-arterial catheter for simultaneous microstructural and molecular imaging in vivo," *Nature medicine*, vol. 17, no. 12, pp. 1680–1684, 2011.
- [64] D. Lorenser *et al.*, "Dual-modality needle probe for combined fluorescence imaging and three-dimensional optical coherence tomography," *Opt. Lett.*, vol. 38, no. 3, pp. 266–268, Feb 2013. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-38-3-266>

- [65] S. Lemire-Renaud, “Composants en fibre optique à double gaine pour l’endoscopie à fibre unique,” Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, 2011.
- [66] S. Lemire-Renaud *et al.*, “Double-clad fiber coupler for endoscopy,” *Opt. Express*, vol. 18, no. 10, pp. 9755–9764, May 2010. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-18-10-9755>
- [67] A. Entwistle et M. Noble, “The quantification of fluorescent emission from biological samples using analysis of polarization,” *Journal of microscopy*, vol. 165, no. 3, pp. 347–365, 1992.
- [68] H.-W. Wang, I. M. Langohr, M. Sturek, et J.-X. Cheng, “Imaging and quantitative analysis of atherosclerotic lesions by cars-based multimodal nonlinear optical microscopy,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 29, no. 9, pp. 1342–1348, 2009. [En ligne]. Disponible : <http://atvb.ahajournals.org/content/29/9/1342.abstract>
- [69] S. Begin, B. Burgoyne, V. Mercier, A. Villeneuve, R. Vallee, et D. Cote, “Coherent anti-stokes raman scattering hyperspectral tissue imaging with a wavelength-swept system,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 2, no. 5, pp. 1296–1306, May 2011. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsinfobase.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-2-5-1296>
- [70] T. Le, T. Huff, et J.-X. Cheng, “Coherent anti-stokes raman scattering imaging of lipids in cancer metastasis,” *BMC Cancer*, vol. 9, no. 1, p. 42, 2009. [En ligne]. Disponible : <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/9/42>
- [71] K. Kieu et N. Peyghambarian, “Synchronized picosecond pulses at two different wavelengths from a compact fiber laser source for raman microscopy,” *Proc. SPIE*, vol. 790310, p. 7, 2011. [En ligne]. Disponible : [+http://dx.doi.org/10.1117/12.878921](http://dx.doi.org/10.1117/12.878921)
- [72] S. Begin, B. Burgoyne, A. Villeneuve, V. Mercier, R. Vallee, et D. Cote, “Wavelength-swept coherent anti-stokes raman scattering spectroscopy system for hyperspectral imaging,” dans *Novel Techniques in Microscopy*. Optical Society of America, 2011, p. NMC3. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsinfobase.org/abstract.cfm?URI=NTM-2011-NMC3>
- [73] B. R. Biedermann, W. Wieser, C. M. Eigenwillig, T. Klein, et R. Huber, “Dispersion, coherence and noise of fourier domain mode locked lasers,” *Opt. Express*, vol. 17, no. 12, pp. 9947–9961, Jun 2009. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-17-12-9947>
- [74] B. R. Biedermann *et al.*, “Real time en face fourier-domain optical coherence tomography with direct hardware frequency demodulation,” *Opt. Lett.*, vol. 33, no. 21, pp. 2556–2558, Nov 2008. [En ligne]. Disponible : <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-33-21-2556>

- [75] L. M. Miller *et al.*, “In situ analysis of mineral content and crystallinity in bone using infrared micro-spectroscopy of the  $\nu(4)po(4)(3-)$  vibration,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1527, pp. 11 – 19, 2001. [En ligne]. Disponible : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304416501000939>
- [76] M. Morris et G. Mandair, “Raman assessment of bone quality,” *Clinical Orthopaedics and Related Research*, vol. 469, pp. 2160–2169, 2011, 10.1007/s11999-010-1692-y. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1007/s11999-010-1692-y>
- [77] S. K. Nadkarni *et al.*, “Measurement of collagen and smooth muscle cell content in atherosclerotic plaques using polarization-sensitive optical coherence tomography,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 49, no. 13, pp. 1474–1481, 2007.
- [78] J. Nyman *et al.*, “Measuring differences in compositional properties of bone tissue by confocal raman spectroscopy,” *Calcified Tissue International*, vol. 89, pp. 111–122, 2011, 10.1007/s00223-011-9497-x. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-011-9497-x>
- [79] A. Poulin, R. St-Gelais, N. Goulamhoussen, G. Zhu, C. Boudoux, et Y. Peter, “In-plane mems-based fabry-perot filter for high-speed wavelength-swept semiconductor laser,” *EPM*, vol. 1, p. 1, 2012.
- [80] C. V. Raman et K. S. Krishnan, “A new type of secondary radiation,” *Nature*, vol. 121, pp. 501–502, 1928.
- [81] L. G. Rodriguez, S. J. Lockett, et G. R. Holtom, “Coherent anti-stokes raman scattering microscopy : A biological review,” *Cytometry Part A*, vol. 69A, no. 8, pp. 779–791, 2006. [En ligne]. Disponible : <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.a.20299>
- [82] A. Rollins, S. Yazdanfar, M. Kulkarni, R. Ung-Arunyawee, et J. Izatt, “In vivo video rate optical coherence tomography,” *Opt. Express*, vol. 3, no. 6, pp. 219–229, Sep 1998. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-3-6-219>
- [83] M. J. Turunen, S. Saarakkala, L. Rieppo, H. J. Helminen, J. S. Jurvelin, et H. Isaksson, “Comparison between infrared and raman spectroscopic analysis of maturing rabbit cortical bone,” *Appl. Spectrosc.*, vol. 65, no. 6, pp. 595–603, Jun 2011. [En ligne]. Disponible : <http://as.osa.org/abstract.cfm?URI=as-65-6-595>
- [84] C. Xu, P. Carney, et S. Boppart, “Wavelength-dependent scattering in spectroscopic optical coherence tomography,” *Opt. Express*, vol. 13, no. 14, pp. 5450–5462, Jul 2005. [En ligne]. Disponible : <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-13-14-5450>
- [85] Y. Yamashita, A. Maki, et H. Koizumi, “Wavelength dependence of the precision of noninvasive optical measurement of oxy, deoxy, and total hemoglobin concentration.”

*Medical Physics*, vol. 28, no. 6, pp. 1108–1114, 2001. [En ligne]. Disponible :  
<http://link.aip.org/link/MPHYA6/v28/i6/p1108/s1&Agg=doi>